Aus der Abteilung Neuropädiatrie
(Leiter: Prof. Dr. med. Dipl.-Psych. W. Mortier)
der Universitäts-Kinderklinik Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. G.-A. von Harnack)

REFERENZWERTE DER CREATIN- UND PYRUVATKINASE FÜR KINDER UND JUGENDLICHE

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
FRANZ-JOSEF HEBEL

1987

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543909_0075

Aus der Abteilung Neuropädiatrie
(Leiter Prof.Dr.med.Dipl.Psych.W.Mortier)
der Universitäts-Kinderklinik Düsseldorf
(Direktor Prof.Dr.med.G.-A.von Harnack)

Referenzwerte der Creatin- und Pyruvatkinase für Kinder und Jugendliche

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Franz-Josef Hebel

1987

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.:Prof.Dr.Hopf

Referent
gez.:Prof.Dr.Mortier
Korreferent
gez.:Prof.Dr.Reinauer

Inhalt Seite

I Einleitung 1

II Probanden und Methoden 4
Methodik der Pyruvatkinase(PK)-Bestimmung 6
Standardisierte PK-Lösung 10
Methodik der Creatinkinase(CK)-Bestimmung 11
Statistische Qualitätskontrolle 12

III Ergebnisse
Aktivitätsverhalten der CK und PK bei verschiedenen Aufbewahrungszeiten und -temperaturen 13
Verteilung der CK-Aktivitäten 15
Verteilung der PK-Aktivitäten 17
Empirische Korrelation zwischen CK- und PK-Aktivitäten 19
Geschlechtsunterschiede 20
Hormonelle Einflüsse während der Pubertät 23
Zusammenfassung von Kollektiven 24

IV Diskussion
Aktivitätsverhalten der CK 28
Aktivitätsverhalten der PK 28
Pyruvatkinase
Normwertvergleiche 30
Altersabhängigkeit 32
Geschlechtsunterschiede 33
Hormonelle Einflüsse auf die PK während der Pubertät 33
Creatinkinase
Normwertvergleiche 36
Altersabhängigkeit 36
Geschlechtsabhängigkeit 38
Hormonelle Einflüsse auf die CK während der Pubertät 39
Empirische Korrelation zwischen CK- und PK-Aktivitäten 40
Praktische Bedeutung 40

V Zusammenfassung 43

VI Literaturverzeichnis 45

Einleitung

Die Creatinkinase (CK, EC 2.7.3.2.) ist seit mehr als zwanzig Jahren als wichtiges Diagnosekriterium zur Erkennung und Differenzierung verschiedener Hirn-, Herz- und Muskelerkrankungen bekannt. Zu den wohl schwerwiegendsten Formen der primären Myopathien zählt die progressive Muskeldystrophie vom Typ Duchenne (DMD). Sie zeigt bei Knaben eine Häufigkeit von 1:3000 und endet meist vor dem zwanzigsten Lebensjahr letal. Zur Diagnose werden neben dem klinischen Erscheinungsbild das Elektromyogramm, die Muskelbiopsie sowie Enzyme (SGOT, SGPT, LDH, Aldolase und CK) herangezogen (Übersicht MORTIER 1981).

Da eine kausale Therapie nicht möglich ist, besteht derzeit die einzig wirksame Maßnahme in der Prävention durch eine genetische Beratung.

Die DMD ist eine x-chromosomal rezessive Erbkrankheit, bei der phänotypisch gesunde Mütter das kranke Gen zu 50% auf ihre männlichen Nachkommen übertragen. Die genetische Beratung betroffener Familien basiert also auf der Erfassung von Konduktorinnen. Hierbei werden in der Literatur unterschiedliche Erfassungsraten genannt. Bei der Beurteilung der Erfassungsraten muß zwischen sicheren, wahrscheinlichen und möglichen Trägerinnen unterschieden werden (PEARCE et al.1964).

Im Erwachsenenalter beträgt die Erfassungsrate von sicheren und möglichen Trägerinnen mit Hilfe der CK-Bestimmung 67% nach MOSER (1977) und 53% nach NICHOLSON et al.(1979). Mit 19% liegt die von PERCY et al. (1979) angegebene Rate zwar am niedrigsten, jedoch bezieht sie sich auch nur auf die Erfassung möglicher Konduktorinnen.

Im Kindes- und Jugendalter hingegen hat die Erfassung von sicheren und möglichen Trägerinnen durch die CK-Bestimmung wesentliche bessere Chancen. Dies haben zahlreiche Autoren in den letzten Jahren gezeigt (MOSER 1977, NICHOLSON et al.1979, SAGE et al.1979, ROSES und LANE 1983). MOSER (1977) z.B. gibt die Erfassungsrate im Kindes- und Jugendalter mit 95% an.

Trotz relativ hoher Erfassungsraten versucht seit etwa zehn Jahren eine große Gruppe von Untersuchern (HARANO et al.1973,ALBERTS und SAMAHA 1974, WEINSTOCK et al.1977, ZATZ et al.1978,SAGE et al.1979, PERCY et al. 1979) eine noch höhere Quote zu erreichen. Dieses Ziel soll durch Bestimmung der Pyruvatkinase (PK, EC 2.7.1.40) vor allem im Serum von wahrscheinlichen und möglichen Trägerinnen angestrebt werden.

Welche Bedeutung der Pyruvatkinase im Vergleich zur CK zukommt, wird zur Zeit noch diskutiert. Zu dieser Diskussion will die vorliegende Arbeit insofern beitragen, als für künftige Arbeiten auf diesem Gebiet Referenzwerte der PK und CK vornehmlich für das Kindes- und Jugendalter benötigt werden.

Für die CK NAC-aktiviert gibt es einige Arbeiten über Referenzwerte im Kindesalter(KUPKE et al.1980, SITZMANN 1981, SITZMANN und ORTH 1983), deren Differenzierung nach Alter und Geschlecht von der vorliegenden Arbeit erheblich abweichen. Außerdem sind Pubertätseinflüsse nicht berücksichtigt worden.

Für die Pyruvatkinase(PK) existieren bislang lediglich Normalwerte für Erwachsene(VAN RYMENANT und ROBERT 1959, MERTEN und SOLBACH 1961, SCHMIDT und SCHMIDT 1962).

Erstmalig mit der nun vorliegenden Arbeit werden CK-Referenzwerte für Kinder, differenziert nach Alter, Geschlecht und Pubertätseinfluß in verläßlicher Form beschrieben.

Ebenfalls erstmalig werden mit der NAC-aktivierten CK-Bestimmungsmethode hormonelle Einflüsse auf den Enzymspiegel von Schulkindern während der Pubertät untersucht.

Schließlich sei noch auf die diagnostische Bedeutung der hier erarbeiteten Normwerte für andere neuromuskuläre Erkrankungen außer der DMD hingewiesen, die infolge einer Membranpermeabilitätsstörung zu einem erhöhten Enzymefflux führen. Die Kenntnis der CK- und PK-Referenzwerte im Kindes- und Jugendalter ist für die Diagnostik dieser Erkrankungen eine wertvolle Hilfe.

Probanden und Methoden

Untersucht wurden Seren von 322 Kindern, davon 131 Mädchen und 191 Jungen im Alter von 4 Wochen bis 15 Jahren. Das Klientel setzte sich zu etwa einem Drittel aus stationär behandelten Patienten der Düsseldorfer Universitäts-Kinderklinik und zu etwa zwei Dritteln aus ambulant behandelten Patienten frei praktizierender Kinderärzte aus dem Düsseldorfer Raum zusammen.[1]

Zum Ausschluß vornehmlich pädiatrischer Erkrankungen, die die CK und PK beeinflussen können(s.Tab.I und Übersichten bei NEVINS et al.1973, SCHMIDT und SCHMIDT 1976, SITZMANN 1978), wurden gezielte Anamnesen durchgeführt und Entlassungsdiagnosen überprüft. Erst nachdem diese Erkrankungen bzw. Einflüsse mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden konnten, wurde den Kindern ca.3ml Blut aus der Kubitalvene entnommen. Falls erst durch die Entlassungsdiagnose eine die CK und PK beeinflussende Erkrankung bekannt wurde, blieben die ermittelten Enzymaktivitäten bei der Auswertung unberücksichtigt.

Nach einer Gerinnungszeit von mindestens einer halben Stunde bei Raumtemperatur wurde bei 3000 U/min fünf Minuten lang zentrifugiert. Die Enzymbestimmung im Serum von Kindern aus der Universitätsklinik wurde unmittelbar nach dem Zentrifugieren durchgeführt. Bis dahin wurde sorgfältig darauf geachtet, daß die Seren weder Sonnen- noch Tageslicht ausgesetzt waren. Durch den Transport in verschlossenen Thermosbehältern wurde dieser Forderung auch bei Seren von Kindern Rechnung getragen, die ambulant bei Kinderärzten außerhalb der Universitätsklinik behandelt wurden.

---

[1] An dieser Stelle möchte ich den Herren Dr.med.A.Colli und Dr.med.A.Büchs sowie deren Mitarbeitern für ihre wertvolle Mithilfe danken.

Tab I

CK-Beeinflussungen ohne primäre Myopathien	
Alkoholintoxikation	NYGREN 1966
Starke körperliche Belastung	KIEF et al.1972 und BAUMANN et al.1962
Chirurgische Eingriffe	DIXON et al.1971
Endoskopische Eingriffe i.d.Urologie	MULCAHY et al.1971
Elektromyographie	BERNHARDT u.EICKHOFF 1980
Encephalitis	SCHIAVONE u.KALDOR 1965
Epilepsie	GLÖTZNER et al.1979
Fehlernährung(Kwashiorkor)	BALMER u.RUTISHAUSER 1968
Fieberkrämpfe	SALTER u.SAUNDERS 1970
Halothan-Narkose	TAMMISTO u.AIRAKSINEN 1966
Herzkatheterisierung	WOLFE et al.1970 und LUCENA et al.1974
Maligne Hyperthermie	ISAACS u.BARLOW 1970
Hypocalcämie	HOWER et al.1974
Hypoparathyreoidismus	SHANE et al.1980
Hypothyreose	GRAIG und ROSS 1963
Intramuskuläre Injektionen	MELTZER et al. 1970 und VORBURGER et al.1973
Bakterielle Meningitis	SCHIAVONE u.KALDOR 1965
Ornithose - Psittakose	MANIGAND et al.1981
Akute Psychosen	MELTZER 1968
Schädel-Hirn-Trauma	DUBO et al. 1967
Schlafentzug	KUPFER et al.1970
Schlafmittelintoxikation	FROTSCHER et al.1972
Schock	FORSTER 1963
Strahlentherapie im Myokardbereich	MUGGIA et al.1970
Subarachnoidalblutung	HUNT et al.1969
Tetanus	STIRNEMANN et al.1967

PK-Veränderungen bei	
Akuter Hepatitis	SCHMIDT et al.1958
Tumoren	MERTEN und SOLBACH 1961
Nichtspärozytärer hämolytischer Anämie	TANAKA et al.1962

UNIV. LEIDEN NL

Falls eine Aufarbeitung der Seren nicht innerhalb des Entnahmetages möglich war, wurden die Seren bei -20°C tiefgefroren und spätestens innerhalb einer Woche der Aktivitätsbestimmung zugeführt.

Vor Beginn der Enzymbestimmung wurden die Seren nochmals 5 Minuten lang bei 3000 U/min zentrifugiert. Anschließend erfolgte eine mindestens halbstündige Aufbewahrung im Eiswasser(OTTO et al.1964). Nach HARANO et al.(1973) führt diese Maßnahme zur Inaktivierung der nicht muskelspezifischen Isoenzyme der PK.

Aus praktischen Gründen wurden die meisten CK- und PK-Bestimmungen nach 3 bis 6 Stunden aus frischem Serum durchgeführt oder nach Tieffrieren an den folgenden Tagen, spätestens aber entsprechend dem Vorgehen auch anderer Autoren(VAN RYMENANT und ROBERT 1959, OTTO et al.1964, WEINSTOCK et al.1977, ZATZ et al.1978, PERCY et al.1979,LIU et al.1980) innerhalb einer Woche.

Methodik der Pyruvatkinasebestimmung

Der PK-Bestimmung liegt folgende Reaktion zugrunde:

$$\text{PEP} + \text{ADP} \xrightarrow[\text{Mg}^{2+},\ \text{K}^{+}]{\text{PK}} \text{Pyruvat} + \text{ATP}$$

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH}+\text{H}^{+} \overset{\text{LDH}}{\rightleftharpoons} \text{Lactat} + \text{NAD}^{+}$$

In der Hauptreaktion katalysiert die PK die Dephosphorylierung des Phosphoenolpyruvats(PEP) zu Pyruvat und die Phosphorylierung des Adenosindiphosphats(ADP) zu Adenosintriphosphat(ATP).Das dabei gebildete Pyruvat wird in der anschließenden Indikatorreaktion mit Hilfe der LDH zu Lactat reduziert, während die Oxidation des $NADH+H^{+}$ zu NAD^{+} photometrisch eine Extinktionsabnahme bewirkt. Das Delta E/min ist proportional der PK-Aktivität, welche nach folgender Formel berechnet

wurde:

$$PK(U/l)_{25^oC} = \text{Delta } E_{334nm}/min \times 4935.$$

Den Testansatz modifizierte PERCY et al.(1979) nach einer Methode von VALENTINE und TANAKA(1966) derart, daß eine endgültige PEP-Konzentration von 140 uM erreicht wurde.Mit dieser PEP-Konzentration und einer ADP-Konzentration von 0.4 mM konnte nach Austestung von zwölf anderen PEP-Konzentrationen am besten zwischen normalen und pathologischen Seren unterschieden werden.

Es wurden folgende Reagenzien eingesetzt:

LiChrosolv^R Wasser für die Chromatographie(2.5 l)
Hersteller E.Merck,Darmstadt,Art.Nr.15333.

Adenosin-5'-diphosphat(ADP) Mol.Gew.471.2(1 g)
Hersteller Boehringer Mannheim,Best.Nr.127507.

Lactatdehydrogenase(LDH) Kristallsuspension aus Schweinemuskel 5000 U/ml entspr.500 U/mg (5 ml)
Hersteller E.Merck,Darmstadt,Art.Nr.5311.

Nicotinamid-Adenindinucleotid red.(NADH)(500 mg)
Mol.Gew.745.4,Hersteller Boehringer Mannheim
Best.Nr.107735.

Phosphoenolpyruvat(PEP)(100 mg) Mol.Gew.465.3
Hersteller Boehringer Mannheim,Best.Nr.127388.

Triäthanolamin HCl(TEA) p.A.mind.99% (25 g)
Hersteller SERVA-Feinbiochemica,Heidelberg
Best.Nr.36885.

Pyruvatkinase(PK) aus Kaninchenmuskel Kristallsuspension (1 ml) 2000 U/ml entspr.200 U/mg,
Hersteller E.Merck,Darmstadt,Art.Nr.11648.

Albumin aus Rinderserum kristallisiert reinst 99% (10 g) Hersteller SERVA-Feinbiochemica,
Heidelberg,Best.Nr.11920.

Magnesiumsulfat($MgSO_4$) p.A.
Hersteller E.Merck,Darmstadt.

Kaliumchlorid (KCl) p.A.
Hersteller E.Merck,Darmstadt.

Zunächst wurden folgende Lösungen hergestellt:
0.05 M Triäthanolamin HCl(TEA)-Puffer
0.928 g/100 ml Wasser;
Mit 6 N NaOH wurde ein pH von 7.50 eingestellt.
2.25 M Kaliumchloridlösung(KCl)
16.77 g/100 ml Wasser.
0.24 M Magnesiumsulfatlösung($MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$)
5.91 g/100 ml Wasser.
Diese Lösungen wurden ständig vorrätig gehalten und bei Raumtemperatur aufbewahrt.Gelegentliche Kontrollmessungen des TEA-Puffers ergaben eine gute Stabilität des pH-Wertes.
Alle übrigen Lösungen wurden während der halbstündigen Inkubationszeit der Seren im Eisbad frisch hergestellt:
0.0042 M Phosphoenolpyruvatlösung(PEP)
3.82 mg/1950 ul Puffer.
Nicotinamid-Adenindinucleotid red.(NADH)-Lösung
7.80 mg/7800 ul Puffer.
0.006 M Adenosin-5'-diphosphat(ADP)-Lösung
11.02 mg/3900 ul Wasser.
Lactatdehydrogenase(LDH)-Lösung 540 U/ml
210 ul LDH/1740 ul Eiswasser.

Die o.g.Ansätze reichten aus für 18 Bestimmungen und wurden am häufigsten verwendet.Weitere Ansätze für 12 bzw.24 Bestimmungen sind der Tab.II zu entnehmen.

Unter Berücksichtigung der relativ geringen Substanzmengen mußte analytisch gewogen werden.Die Substanzen wurden jeweils in eines der üblichen Reagenzröhrchen gegeben und das jeweils erforderliche Lösungsmittel hinzugefüllt.

Tab.II

Reagenzienansätze zur Pyruvatkinasebestimmung im Serum

n	12	18	24
ADP	7.35 mg	11.02 mg	14.70 mg
PEP	2.55 mg	3.82 mg	5.10 mg
NADH	5.20 mg	7.80 mg	10.40 mg
Puffer für NADH	5200 ul	7800 ul	10400 ul
Aqua bidest. für ADP	2600 ul	3900 ul	5200 ul
Puffer für PEP	1300 ul	1950 ul	2600 ul
Eiswasser für LDH	1160 ul	1740 ul	2320 ul
LDH	140 ul	210 ul	280 ul

Standardisierte Pyruvatkinaselösung

Da bisher ein Kontrollserum mit standardisierten PK-Aktivitäten nicht im Handel ist,wurde eine entsprechende Lösung in Anlehnung an eine interne Testvorschrift der Fa.Boehringer Mannheim(1980) angesetzt:

0.1%ige Albuminlösung
200 mg Albumin/200 ml Wasser
(10 min rühren).

PK Kontrollösung 100 U/l
10 ul PK-Kristallsuspension in
200 ml Albuminlösung geben.

Sofort nach der Herstellung wurde zur Vermeidung von Aktivitätsverlusten die PK-Kontrollösung in ein Eisbad gestellt.Die Stabilität der Enzymaktivität wurde in mehreren Serien überprüft.Dabei zeigten die Meßreihen(n=11) ein annehmbares Richtigkeitsmaß(d=1-3%) und entsprachen mit ihren jeweiligen Variationskoeffizienten(VK=6.1-8.2%) einer für enzymatische Messungen üblichen Präzision von weniger als 10%(MÜLLER 1977,RICK 1977).Die Verwendung der mit 100 U/l standardisierten PK-Kontrollösung war somit zulässig.

Photometrische Messung der PK-Aktivität

Zur Messung der PK-Aktivität wurden von den vorbereiteten Lösungen die nachfolgenden Mengen in genau der von PERCY et al.(1979) angegebenen Reihenfolge in ein Reagenzglas pipettiert:

1.Aqua bidestillata	2000 ul
2.$MgSO_4$-Lösung	100 ul
3.KCl-Lösung	100 ul
Mischen	
4.ADP-Lösung	200 ul
Mischen	
5.LDH-Lösung	100 ul
Mischen	

6.NADH/Puffer-Lösung	400 ul
Mischen	
7.Serum	100 ul
Mischen	
8.PEP/Puffer-Lösung	100 ul
Mischen	

Es folgte eine 6-minütige Inkubationszeit bei genau 25°C Wasserbadtemperatur. Häufige Temperaturkontrollen konnten das Richtigkeitsmaß verbessern, da bekannt ist, daß Temperaturabweichungen von über 1°C die Enzymaktivität um ca. 10% (RICK 1977) bzw. 4-10% (SITZMANN 1978) verändern.

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde 1 ml des Reaktionsgemisches unter Vermeidung von Blasenbildung in eine Küvette pipettiert und diese in den ebenfalls auf 25°C temperierten Küvettenhalter gestellt.

Es wurde mit dem programmierbaren computergesteuerten Eppendorf-Photometer PCP 6121 (Herst. Netheler & Hinz, Hamburg) bei einer Wellenlänge von 334 nm über 3 min gemessen. Unter vorheriger Eingabe von Faktor (f=4935) und Meßzeit (t=3 min) wurde das Ergebnis in U/l angezeigt.

Methodik der Creatinkinasebestimmung

Die Reaktion verläuft in drei Schritten:

(1) $\text{Creatinphosphat} + \text{ADP} \xrightleftharpoons{\text{CK}} \text{Creatin} + \text{ATP}$

(2) $\text{Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{Glucose-6-P} + \text{ADP}$

(3) $\text{Glucose-6-P} + \text{NADP}^+ \xrightleftharpoons{\text{G-6-P-DH}}$

$\text{Gluconat-6-P} + \text{NADPH} + \text{H}^+$

In der Hauptreaktion (1) wird Creatinphosphat mit Hilfe der CK dephosphoryliert. In einer Hilfsreaktion (2) katalysiert Hexokinase (HK) die Entstehung von Glucose-6-Phosphat, das in einer sogenannten Farbreaktion (3) durch Reduktion von $NADP^+$(ox.) zu $NADPH+H^+$(red.) eine Extinktionszunahme bewirkt.

Analog zur PK-Messung wurde eine Wellenlänge von 334 nm gewählt, weil diese dem Absorptionsmaximum von NADPH (340 nm) am nächsten liegt. Die Meßtemperatur betrug ebenfalls 25°C. Die Berechnung erfolgte nach der Formel:

$$CK\ (U/l)_{25°C} = \text{Delta } E_{334\ nm}/min \times 4207$$

Statistische Qualitätskontrolle(Präzision und Richtigkeit)

Wie die nachfolgende Tab.III zeigt,ergeben sich sowohl für die Bestimmungsmethoden der CK-NACakt. als auch für die der PK akzeptable Präzisions- und Richtigkeitswerte.

Tab.III

Bestimmung der CK-NACakt.im Precinorm® E(Boehringer Mannheim)Sollwert 52U/l					Bestimmung der PK in einer selbsthergestellten Kontrollösung Sollwert 100 U/l		
Datum	25.8.80	26.8.	27.8.	29.8.	28.11.	1.12.	4.2.81
	52	50	53	49	115	108	108
	45	47	46	46	101	104	112
	47	50	45	53	94	114	109
	51	50	53	50	91	98	101
	55	52	52	48	90	98	103
	51	54	50	55	95	95	103
	49	45	44	54	103	98	96
	43	53	54	50	90	95	93
	48	47	55	47	98	105	100
	52	50	48	49	87	100	101
					100	95	99
							85
$\underline{n}$ =	10	10	10	10	11	11	12
$\bar{x}$ =	49	50	50	50	97	101	101
s =	3,59	2,82	4,00	3,00	7,90	6,15	7,34
VK=	7,3%	5,6%	8,0%	6,0%	8,2%	6,1%	7,3%
d =	5,8%	3,8%	3,8%	3,8%	3,0%	1,0%	1,0%

Ergebnisse

Aktivitätsverhalten der CK und PK bei verschiedenen Aufbewahrungszeiten und -temperaturen

Über die Stabilität der CK NAC-aktiviert wurden eigene Messungen in folgender Weise durchgeführt:

Von 6 gesunden Probanden wurde Serum gewonnen, das für die tägliche Messung der CK in Doppelbestimmungen über einen Zeitraum von 6 Tagen ausreichend war. Eine Hälfte des Serums wurde bei +4°C, die andere bei -20°C aufbewahrt. Unmittelbar nach der Serumgewinnung wurde der 100%ige Ausgangswert der CK bestimmt.

Bei einer Aufbewahrungstemperatur von +4°C ergab sich nach 3 Tagen ein 1%iger, nach 5 Tagen ein 8%iger und nach 6 Tagen ein 9%iger Aktivitätsabfall.

Nach Tieffrieren über einen Zeitraum von 5 Tagen zeigte sich kein Aktivitätsverlust der CK.

Die Abb.1+2 zeigen die Ergebnisse eigener Untersuchungen über das Aktivitätsverhalten der PK.

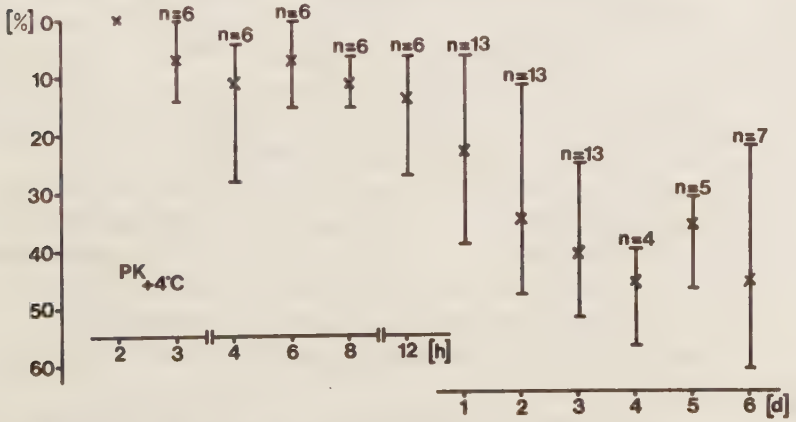

Abb.1 Aktivitätsabfall der PK während 6-tägiger Aufbewahrungszeit bei +4°C.

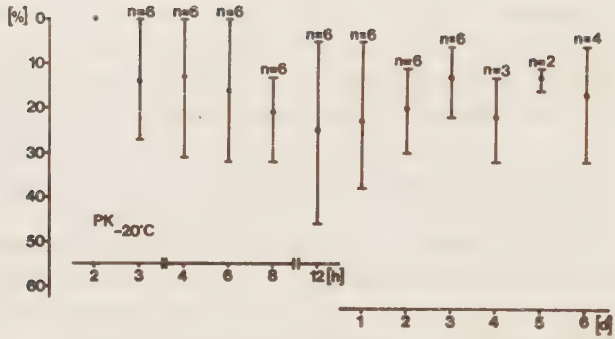

Abb.2 Aktivitätsabfall der PK während 6-tägiger Aufbewahrungszeit bei -20°C.

Die in den Abbildungen 1 und 2 zu beobachtenden Streuungen sind zum Teil relativ groß.Sie haben ihre Ursache in den vorprogrammierten Abweichungsgrenzen des verwendeten computergesteuerten Photometers(Eppendorf PCP 6121).

Die im Rechner angewandte Linearitätsprüfung spricht bei kleinen Aktivitäten,wie hier bei der PK-Bestimmung, nur bei relativ großen Abweichungen von der Linearität an. In diesem Fall sind die Abweichungsgrenzen mit $\pm$ 4 x $\frac{\text{Faktor}}{1000}$ vom Ergebnis festgelegt.Aufgrund dieser Grenzen ergeben sich außerordentlich große Streuungen.
Bei 37 Enzymaktivitätsbestimmungen nahm das Photometer eine Auswertung nicht vor, da sogar die genannten Grenzen für die Abweichung von der Linearität überschritten waren.

Innerhalb der ersten 24 Stunden verliert die PK etwa 20% ihrer Ausgangsaktivität.Dabei macht es keinen Unterschied,ob die Aufbewahrungstemperatur +4°C oder -20°C beträgt.

Bei einer Aufbewahrungszeit über 6 Tage jedoch fällt die PK-Aktivität um etwa 40% ab,wenn die Aufbewahrungstemperatur +4°C beträgt.Bei -20°C hingegen bleibt ein Aktivitätsverlust von etwa 20% bestehen.

Verteilung der CK-Aktivitäten

Die prozentuale Häufigkeit der CK-Aktivitäten sämtlicher Altersgruppen ist in Abb.3 dargestellt.

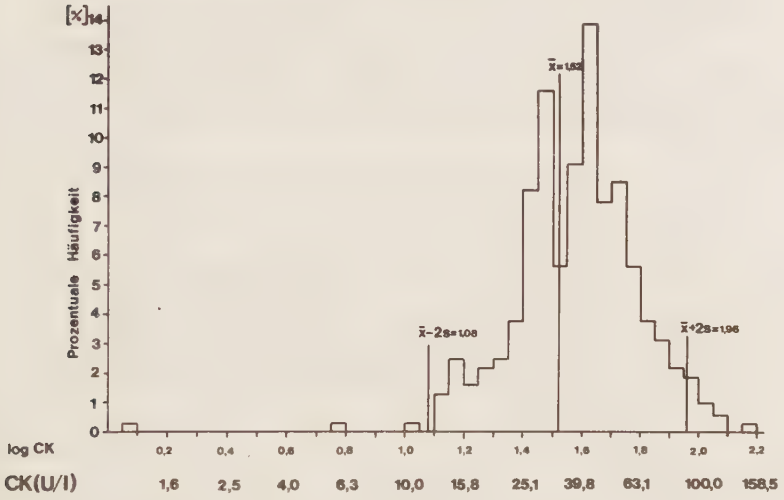

Abb.3 Prozentuale Häufigkeit der CK-Aktivitäten sämtlicher Altersgruppen (n=315). ($\bar{x}$=1.52 entspr.33.1 U/l, s=0.225, $\bar{x}$+2s=1.96 entspr. 91.2 U/l, $\bar{x}$-2s=1.08 entspr.12.0 U/l)

Obwohl trotz logarithmischer Auftragung keine reine Symmetrie zu beobachten ist, darf eine Normalverteilung angenommen werden. Diese wird in der graphischen Darstellung der kumulativen Häufigkeiten (Abb.4) durch den S-förmigen Kurvenverlauf verdeutlicht.

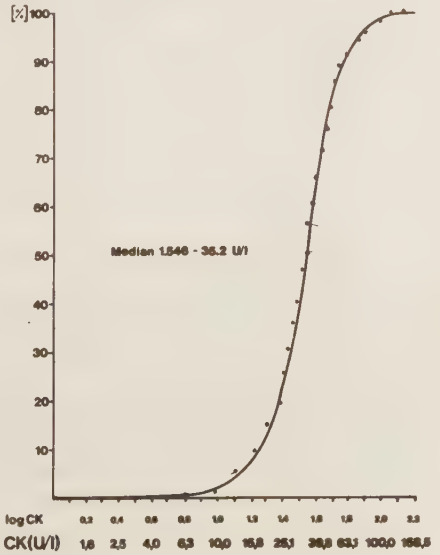

Abb.4 Kumulative Häufigkeiten der CK-Aktivitäten.

Mittelwert in Abb. 3 und Median in Abb. 4 sind fast identisch (33.1 bzw. 35.2 U/l). Unter Vernachlässigung der geringen Differenz von 2.1 U/l wird ausgehend vom Mittelwert 33.1 der 95%-Vertrauensbereich ($\bar{x}\pm 2s$) mit 12.0 - 91.2 U/l errechnet.

129 der 315 Seren stammten von weiblichen Probanden. Bei diesen betrug der Mittelwert für die CK 33.3 U/l und der obere Grenzwert 63.7 U/l ($\bar{x}+2s$).

Bei den 186 untersuchten männlichen Probanden ergab sich ein Mittelwert von 40.8 U/l und ein oberer Grenzwert von 81.5 U/l ($\bar{x}+2s$).

Die CK-Aktivitäten in den verschiedenen Altersstufen zeigt Abb. 5. Bei der statistischen Auswertung läßt sich eine mäßige, aber signifikante (p kleiner 0.01) Aktivitätsabnahme mit zunehmendem Alter nachweisen.

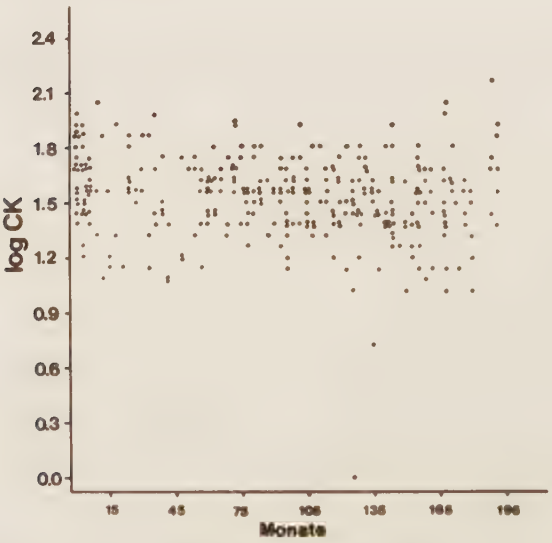

Abb. 5 Creatinkinaseaktivitäten in den verschiedenen Altersstufen. (n=315, Korrelationskoeffizient - 0.147, Gleichungen der Regressionsgeraden: X = -37.052 Y + 149.94; Y = -587E-6 X + 1.5795).

Verteilung der PK-Aktivitäten

Analog zur CK zeigen die Abb.6 und 7 ebenfalls normalverteilte Werte, wobei Mittelwert und Median völlig identisch sind (22.4 U/l). Das 95%ige Konfidenzintervall ($\bar{x}\pm 2s$) liegt zwischen 11.2 und 44.7 U/l und stimmt sehr genau mit dem 2.5%- bzw. 97.5%-Wert auf dem Diagramm der kumulativen Häufigkeiten (Abb.7) überein.

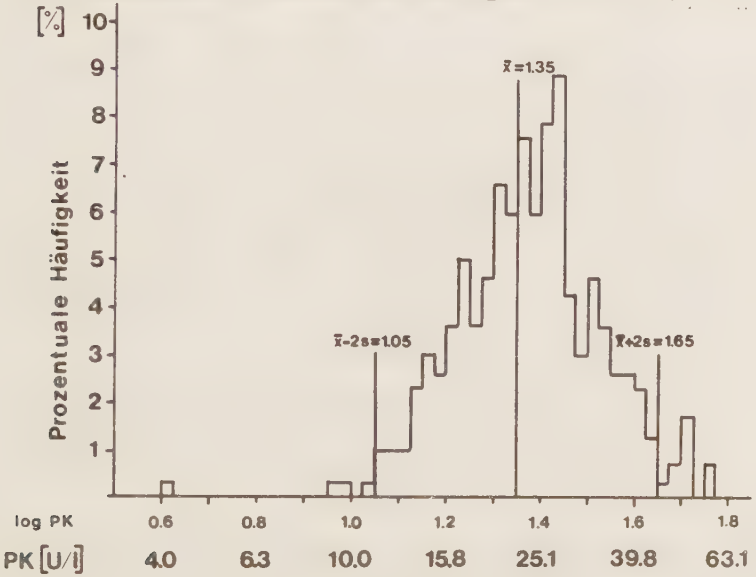

Abb.6 Prozentuale Häufigkeiten der PK-Aktivitäten sämtlicher Altersgruppen (n=302).($\bar{x}$=1.35 entspr. 22.4 U/l; $\bar{x}$+2s=1.65 entspr.44.7 U/l; $\bar{x}$-2s=1.05 entspr. 11.2 U/l; s=0.154).

Von den 302 Seren stammten 125 von Mädchen. Der Mittelwert der PK-Aktivitäten betrug 22.9 U/l, der obere Grenzwert 38.6 U/l ($\bar{x}$+2s). Bei den Jungen wurden 177 Seren untersucht mit einer mittleren PK-Aktivität von 24.3 U/l und einem oberen Grenzwert von 41.9 U/l ($\bar{x}$+2s).

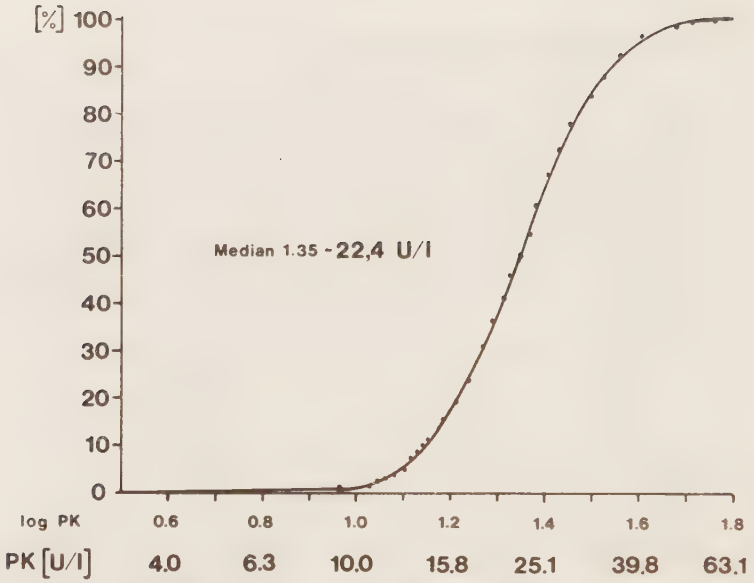

Abb. 7 Kumulative Häufigkeiten der PK-Aktivitäten sämtlicher Altersgruppen (n=302).

Die PK-Aktivitäten in den verschiedenen Altersstufen ist in Abb. 8 wiedergegeben. Die Altersabhängigkeit ist mit p kleiner 0.01 signifikant.

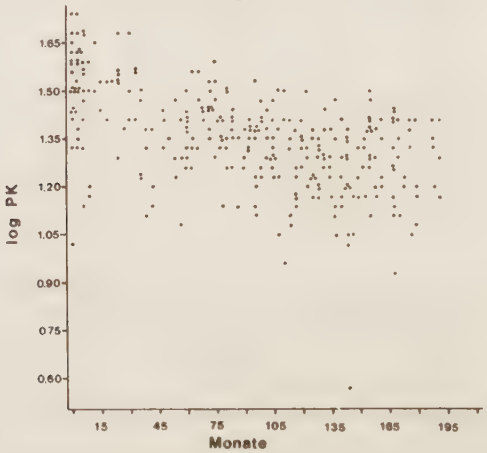

Abb. 8 PK-Aktivitäten in den verschiedenen Altersstufen (n=302).(Korrelationskoeffizient - 0.531; Gleichungen der Regressionsgeraden:
X = -194.24 Y + 354.37; Y = -0.00145 X + 1.4836)

Empirische Korrelation zwischen CK- und PK-Aktivitäten

Zur Frage, ob eine empirische Korrelation zwischen beiden Enzymen besteht, wurde ein weiteres Scatterdiagramm erstellt (Abb. 9). Wie sich aus dem Schnittpunkt der Regressionsgeraden errechnen läßt, liegt der PK-Wert im Mittel bei 88% der CK-Aktivität.

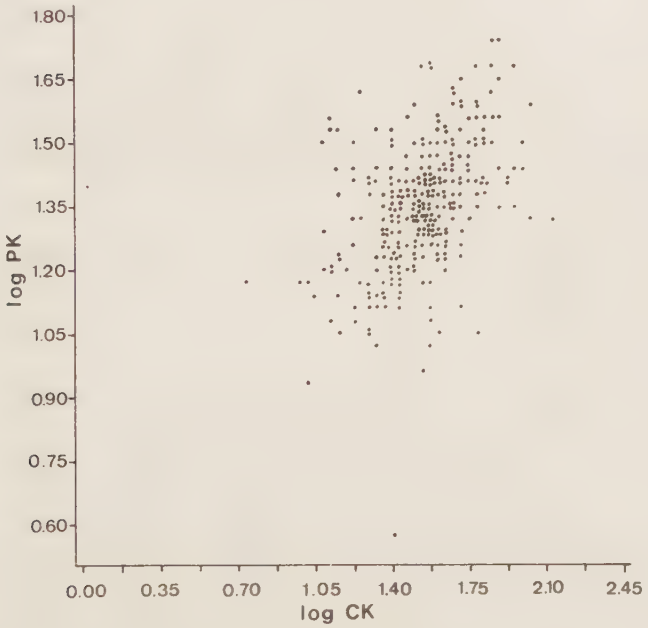

Abb. 9 Empirische Korrelation zwischen CK- und PK-Aktivitäten (n=295). (Korrelationskoeffizient 0.452; Gleichungen der Regressionsgeraden: $x = 0.61\ y + 0.70$ $y = 0.33\ x + 0.84$).

Geschlechtsunterschiede

Bei der Bestimmung der CK-Aktivitäten fanden sich in drei Gruppen signifikante Geschlechtsunterschiede (s. Abb.10):

1) Bei den U3-Kindern (p=0.05),
2) bei den 3-10 Jährigen (p=0.04),
3) und bei den 11-15 jährigen Jungen nach Pubertätseintritt bzw. Mädchen nach der Menarche (p kleiner 0.01).

Betrachtet man jedoch die Gesamtheit der CK-Aktivitäten aller Altersgruppen zusammen, so findet man auch hier eine signifikante Geschlechtsabhängigkeit (p kleiner 0.01).

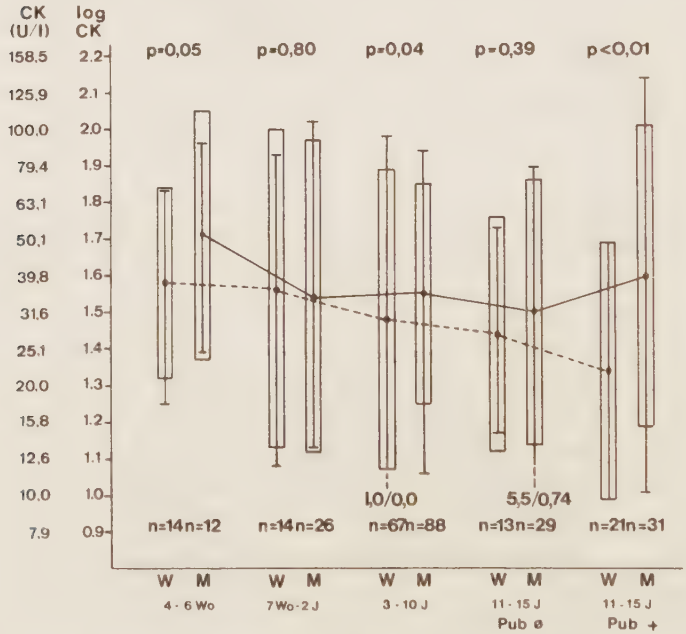

Abb.10 Mittelwerte der CK mit Minimal- und Maximalwerten, symbolisiert durch kurze waagerechte Striche an den Enden der senkrechten Linien, die über den Säulen angelegt sind. Bei der 5. und 8. Linie sind die Minimalwerte in U/l bzw. log CK eingetragen. Die Säulen geben einen Referenzbereich für 4 Altersgruppen an, in dem 95% der Werte erfaßt sind. Die 4. Gruppe ist in Probanden vor bzw. in der Pubertät

differenziert.W=weiblich,M=männlich,p=Signifikanzniveau der Geschlechtsunterschiede innerhalb einer Altersgruppe.

In der Gesamtheit der CK-Werte finden sich signifikante Geschlechts-(p kleiner 0.01) und Altersunterschiede (p kleiner 0.01).Um dies grafisch darzustellen,sind die Mittelwerte der Mädchengruppen(W) mit perforierten,die der Jungengruppen(M) mit durchgezogenen Linien verbunden.

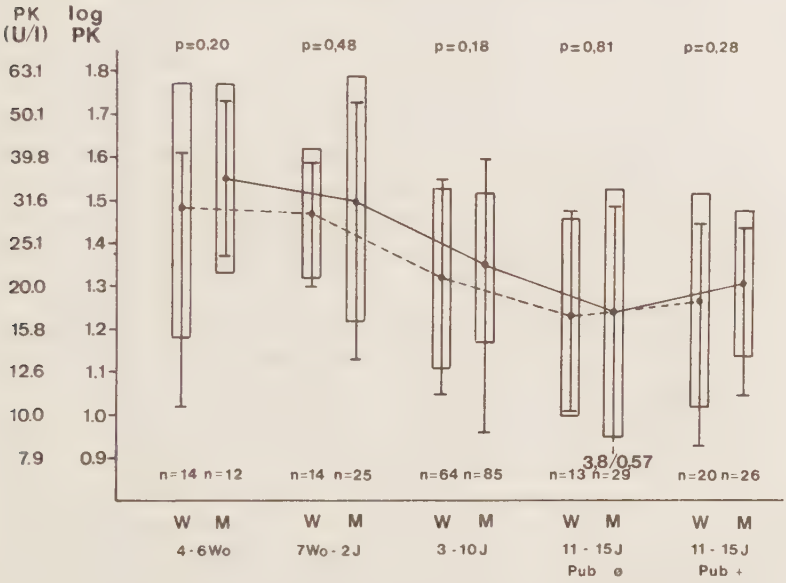

Abb.11 Mittelwerte der PK mit Minimal- und Maximalwerten, symbolisiert,wie in Abb.10,durch kurze waagerechte Striche an den Enden der senkrechten Linien,die über den Säulen angelegt sind.Bei der 8.Linie ist der Minimalwert mit 3.8 U/l bzw.log PK=0.57 ausgeschrieben.Die Säulen geben ebenfalls einen Referenzbereich für 4 Altersgruppen an,in dem 95% der Werte erfaßt sind.Die 4.Gruppe ist,wie zuvor,in Probanden vor bzw.in der Pubertät differenziert.W=weiblich, M=männlich,p=Signifikanzniveau der Geschlechtsunterschiede innerhalb einer Altersgruppe.In der Gesamtheit der PK-Werte finden sich ebenfalls signifikante Alters-(p kleiner 0.01) und Geschlechtsunterschiede(p kleiner 0.05).Zur Veranschaulichung wurden die Mittelwerte der Mädchengruppen(W) mit perforierten,die Mittelwerte der Jungengruppen(M) mit durchgezogenen Linien verbunden.

Bei der Bestimmung der PK-Aktivitäten (Abb.11) fand sich hingegen in den Einzelgruppen überhaupt kein Geschlechtsunterschied. Allerdings besteht in der Gesamtheit aller Altersgruppen, wie bei der CK, eine signifikante Geschlechtsabhängigkeit (p kleiner 0.05).

Hormonelle Einflüsse während der Pubertät

Die 11-15 Jährigen wurden zur Überprüfung der hormonellen Einflüsse während der Pubertät entsprechend in zwei Gruppen vor und nach Pubertätseintritt aufgeteilt. In den Abb.10 und 11 wurden diesen Gruppen die Symbole Pub ø und Pub + gegeben.

CK bei Jungen

29 Jungen vor Pubertätseintritt wurden mit 31 Jungen nach Beginn der Pubertät verglichen (s.Abb.10). Der Mittelwert der CK lag mit 31.6 U/l bei den Jungen vor der Pubertät niedriger als bei den Jungen nach Pubertätseintritt; deren CK-Mittelwert lag bei 39.8 U/l. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant (p=0.09).

CK bei Mädchen

Die Messung der CK-Aktivitäten bei den Mädchen zeigte eine gegenteilige Tendenz: Bei 13 Mädchen vor der Menarche liegt der Mittelwert der CK mit 27.5 U/l höher als bei 21 Mädchen nach der Menarche mit einem Mittelwert der CK von 21.9 U/l. Dieser Unterschied ist aber auch nicht signifikant (p=0.14).

PK bei Jungen

Ähnliche Ergebnisse finden sich bei der PK. Auch hier hatten 29 Jungen vor der Pubertät mit einem Mittelwert der PK von 17.4 U/l eine niedrigere Enzymaktivität als 26 Jungen nach Pubertätseintritt mit einem PK-Mittelwert von 20.4 U/l. Auch hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied (p=0.08).

PK bei Mädchen

Die Ergebnisse der Mädchen- gleichen wiederum denen der Jungengruppen. Bei 13 Mädchen vor der Menarche liegt der PK-Mittelwert mit 17.0 U/l niedriger als bei 20 Mädchen nach der Menarche mit einem Mittelwert der PK von 18.6 U/l. Der offensichtlich nicht signifikante Unterschied ließ sich statistisch mit einem p-Wert von 0.43 belegen.

Zusammenfassend darf gesagt werden, daß sich die CK- und PK-Aktivitäten während der Pubertät nicht signifikant verändern.

Zusammenfassung von Kollektiven

Ursprünglich wurde mit folgender Gruppeneinteilung (Tab.IV) gearbeitet. Bei der Wahl des 4-6 Wochen-Kollektivs wurde an ein mögliches Screening auf CK- und PK-Aktivitäten während der 3.Früherkennungsuntersuchung (U3) gedacht. Zwar ist bislang für die U3 keine routinemäßige CK- und PK-Bestimmung vorgesehen, jedoch besteht in der Bundesrepublik Deutschland schon seit mehreren Jahren die Möglichkeit zur freiwilligen Teilnahme an einem Screening-Test auf erhöhte CK-Aktivitäten für Neugeborene (vgl.MORTIER 1981).

Tab.IV

Gruppeneinteilung

Säuglinge 4 - 6 Wochen (U3 - Kinder)	
	Jungen
	Mädchen
Säuglinge bzw. Kleinkinder 7 Wochen - 2 Jahre	
	Jungen
	Mädchen
Klein- bzw. Schulkinder 3 - 10 Jahre	
	Jungen
	Mädchen
Schulkinder 11 - 15 Jahre	
	Jungen vor der Pubertät
	Mädchen vor der Menarche
	Jungen in der Pubertät
	Mädchen nach der Menarche

Nach Überprüfung der Alters-, Geschlechts- und Pubertätseinflüsse wurden die Gruppen neu geordnet.

Bei der CK-Bestimmung wurden aus sechs Einzelgruppen drei neue Kollektive gebildet. Dabei handelt es sich

1) um die 7 Wochen bis 2 Jahre alten Kinder, bei denen wegen des nicht signifikanten Geschlechtsunterschiedes ($p=0.08$) Jungen und Mädchen zusammengefaßt wurden. Nachdem statistisch gesichert war, daß hormonelle Einflüsse während der Pubertät bei den 11-15 Jährigen keine CK-Veränderungen verursachten, mußte jedoch in dieser Altersgruppe eine signifikante Geschlechtsabhängigkeit (p kleiner 0.01) berücksichtigt werden. Deshalb wurden in diesem Altersbereich lediglich

2) eine Mädchen- und 3) eine Jungengruppe gebildet (s.Tab.V und VI).

Die 11-15 jährigen Jungen hatten den gleichen Wertebereich wie die 7 Wochen bis 2 Jahre alten Kinder. Der t-Test ergab mit 98%iger Wahrscheinlichkeit eine Übereinstimmung. Jedoch wurde wegen des relativ großen Altersunterschiedes von einer Zusammenfassung dieser Kollektive abgesehen.

Bei der PK-Bestimmung ergab sich mit 62%iger Wahrscheinlichkeit ein identischer Wertebereich für die 4-6 Wochen und die 7 Wochen bis 2 Jahre alten Kinder. Wegen der direkten Berührung der Altersgrenzen wurde nun ein neues Kollektiv geschaffen, nämlich das der 4 Wochen bis 2 Jahre alten Kinder. Da bei der PK sowohl Geschlechts- als auch Pubertätseinflüsse ausgeschlossen werden konnten, ergaben sich somit drei Altersgruppen (s.Tab.V und VI).

Die Tab.V zeigt die statistisch errechneten Normalwerte der CK und PK. Der 95%ige Referenzbereich wurde wegen des geringen Stichprobenumfanges nach der Student-t-Verteilung mit Hilfe der Quantile $t_{f;0.95}$ errechnet. Für den klinischen Gebrauch besser geeignet sind die in Tab.VI angegebenen Referenzwerte.

Tab.V

Statistisch errechnete Normalwerte der CK

Alter	Geschlecht	n=	Mittelwert (U/l)	95%-Bereich (U/l)
4 - 6 Wo	Jungen	12	51.5	23.4 - 112.8
	Mädchen	14	37.2	20.9 - 68.4
7 Wo - 2 J	Jungen und Mädchen	40	35.5	13.7 - 91.8
3 - 10 J	Jungen	88	35.6	17.4 - 73.0
	Mädchen	67	30.2	11.7 - 77.7
11 - 15 J	Jungen	60	35.6	14.7 - 85.9
	Mädchen	34	23.9	11.0 - 52.1

Statistisch errechnete Normalwerte der PK

4 Wo - 2 J	Jungen und Mädchen	65	31.6	18.2 - 54.9
3 - 10 J	Jungen und Mädchen	149	21.6	13.9 - 33.5
11 - 15 J	Jungen und Mädchen	88	18.4	10.7 - 31.7

Tab.VI

CK - Referenzwerte		U/l
Säuglinge 4 - 6 Wochen (U3)		
	Jungen	25 - 115
	Mädchen	20 - 70
Säuglinge bzw. Kleinkinder 7 Wochen - 2 Jahre		
	Jungen und Mädchen	15 - 90
Kleinkinder bzw. Schulkinder 3 - 10 Jahre		
	Jungen	15 - 75
	Mädchen	10 - 80
Schulkinder 11 - 15 Jahre		
	Jungen	15 - 85
	Mädchen	10 - 50

PK - Referenzwerte		U/l
Säuglinge bzw. Kleinkinder 4 Wochen - 2 Jahre		
	Jungen und Mädchen	20 - 55
Klein- bzw. Schulkinder 3 - 10 Jahre		
	Jungen und Mädchen	15 - 35
Schulkinder 11 - 15 Jahre		
	Jungen und Mädchen	10 - 30

Diskussion

Aktivitätsverhalten der Creatinkinase

Schon durch Tageslicht kann die Enzymaktivität empfindlich beeinflußt werden. Von THOMPSON(1969) wissen wir, daß schon durch 50-minütige UV-Absorption im Serum ein irreversibler bis zu 25%iger CK-Aktivitätsverlust eintreten kann. Serum, so empfiehlt THOMPSON, das für die Enzymbestimmung vorgesehen ist, sollte deshalb bei +4°C in Dunkelheit aufbewahrt und bei gedämpftem Licht getestet werden. Dieser Empfehlung waren wir gefolgt, in dem wir unsere Seren in geschlossenen Thermosbehältern transportierten. Die Behälter waren mit Eiswasser gefüllt.

Kein Aktivitätsverlust findet sich nach Reaktivierung durch SH-Verbindungen(z.B.Glutathion). Zu diesem Ergebnis kamen SCHMIDT u. SCHMIDT(1976) nach Aufbewahrung des Serums über 7 Tage bei +4°C.

Im Beipackzettel der Fa.Boehringer Mannheim(1979) zum MONOTEST^{R} CK NAC-aktiviert ist ein 2%iger Aktivitätsabfall nach 7 Tagen bei +4°C beschrieben.

Noch umfangreichere Untersuchungen hatten SMITH und THOMSON (1977) durchgeführt. Sie fanden nach 24-stündigem Tieffrieren und Reaktivierung mit Glutathion einen 4-6%igen Verlust der CK-Aktivität; nach 1-wöchigem Tieffrieren betrug der Verlust 7-8%, nach 4-wöchiger Aufbewahrung unter -20°C 4-12%.

Nach diesen und den eigenen Messungen über die Stabilität der CK NAC-aktiviert liegen die Aktivitätsverluste der CK in einem Bereich, der im Vergleich zur Pyruvatkinase als unerheblich bezeichnet werden darf und praktisch vernachlässigt werden kann.

Aktivitätsverhalten der Pyruvatkinase

In der Literatur sind nur sehr wenige und sehr unterschiedliche Angaben über das Aktivitätsverhalten der PK gemacht worden. VAN RYMENANT u. ROBERT(1959) berichten über einen 40%igen Aktivitätverlust nach 24-stündiger Aufbewahrung des Serums im Kühlschrank. Bei

Raumtemperatur ist jedoch innerhalb der ersten 4 Stunden kein Aktivitätsverlust beobachtet worden.

SCHMIDT et al.(1966) fanden hingegen nach 4-stündiger Aufbewahrung bei Raumtemperatur einen 25%igen Verlust. Diese Beobachtung stimmt gut mit der von SMITH und THOMSON(1977) überein. Sie fanden bei Raumtemperatur einen Aktivitätsverlust von 22-27% nach 24-stündiger Lagerung.

Selbst durch Tieffrieren bei -20°C läßt sich der Aktivitätsabfall der PK nicht aufhalten.

SMITH und THOMSON(1977) beobachteten nach Tieffrieren über 24 Stunden einen Verlust von 3-5%, nach einer Woche von 13-15% und nach 4 Wochen von 19-22%. Nach ZATZ et al.(1978) beträgt der Aktivitätsverlust nach 2-monatiger Lagerung bei -20°C immerhin schon 50%.

Wie aus diesen Angaben zu ersehen ist, sind die Aktivitätsverluste nicht unerheblich. Dies veranlaßte uns zu den auf den Seiten 13 und 14 bereits beschriebenen Untersuchungen über das Aktivitätsverhalten beider Enzyme bei Aufbewahrungstemperaturen von +4°C und -20°C.

Aus den vorliegenden Ergebnissen resultieren zwei wichtige Aussagen:

1. Serum, das innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Zentrifugieren im Kühlschrank bei +4°C aufbewahrt wird, verliert nicht soviel Aktivität wie Serum, das im gleichen Zeitraum tiefgefroren wird.
2. Serum, das nicht innerhalb von 24 Stunden nach dem Zentrifugieren untersucht werden kann, sollte grundsätzlich tiefgefroren werden.

Die Enzymbestimmung innerhalb von zehn Tagen nach Tieffrieren (WEINSTOCK et al.1977) oder innerhalb von drei Wochen nach Tieffrieren (SAGE et al.1979) dürfte noch akzeptabel sein. Im Widerspruch zu der Beobachtung von ZATZ et al.(1978), die einen 50%igen Aktivitätsverlust

nach 2-monatigem Tieffrieren feststellten, steht die Behauptung von HARANO et al.(1973), der Muskeltyp der PK sei für wenigstens ein Jahr in gefrorenem Zustand stabil. Ob eine PK-Bestimmung innerhalb von zehn Monaten (HARDY et al.1977) oder eines Jahres (HARANO et al. 1973) nach Tieffrieren noch zuverlässige Werte liefern kann, muß eher bezweifelt werden. SMITH und THOMSON(1977) fanden nämlich schon nach 4-wöchigem Tieffrieren einen Verlust des Muskeltyps der PK von 10-25%.

Pyruvatkinase

Normwertvergleiche

Die in der Literatur angegebenen Normalwerte für die Pyruvatkinase im Serum(s.Tab.VII)umfassen verschiedene Kollektive, uneinheitliche Meßtemperaturen(25°-37°C) sowie stark voneinander abweichende Enzymaktivitäten. Es werden sowohl U/l als auch Bücher- oder Wróblewski-Einheiten angegeben. Die Wertebereiche werden entweder mit Minimal- und Maximalwerten(Range) oder meist als 95%iges Toleranzintervall oder aber überhaupt nicht beschrieben.

Bücher- und Wróblewski-Einheiten konnten mit Hilfe von Faktoren(18.3 bzw. 0.48) in U/l umgerechnet werden (DOCUMENTA GEIGY 1968). Soweit eine Standardabweichung angegeben war, wurde der 95%-Bereich errechnet. Auf Korrekturen für unterschiedliche Meßtemperaturen mußte wegen fehlender Unterlagen verzichtet werden. Allerdings weichen die Meßtemperaturen auch nur in zwei Fällen von den üblichen 25°C ab, so daß ein Vergleich in der Gesamtübersicht nicht an unterschiedlichen Meßtemperaturen scheitert.

Weiterhin auffällig sind die unterschiedlichen Kollektive. Zwei Drittel der Autoren beschreiben Normalwerte für Erwachsene. Somit liegen relativ wenig Vergleichswerte für Kinder vor. Zudem sind letztere nicht nach verschiedenen Altersgruppen differenziert.

Tab.VII

PK-Normalwerte im Serum(U/l) - Meßtemperatur 25°C
Literaturübersicht und eigene Ergebnisse

Autor	Kollektiv	Mittelwert	$\bar{x}$-2s	$\bar{x}$+2s
SCHMIDT et al.(1958)	Erwachsene	10.6	3.8	16.3
VAN RYMENANT und ROBERT(1959)	Erwachsene	29.9	15.7	49.6
MERTEN und SOLBACH (1961)	Erwachsene	15.8	3.8	27.8
SCHMIDT und SCHMIDT (1962)	Erwachsene	16.4	3.8	34.8
OTTO et al.(1964)	Männer (20-28J)	25.9	14.5	37.2
HARANO et al.(1973)	Kinder und Erwachsene (4-60J)	11.5	1.5	21.5
GUTMANN u.BERNT (1974)		26.0		
ALBERTS u.SAMAHA (1974)		18.7	7.3	26.0
WEINSTOCK et al. (1977)	Erwachsene (17-55J)	32.0(30°)*	14.0	50.0
YAMUNA et al.(1977)	Kinder	44.6(30°)	26.2	62.8
	Erwachsene	22.0(30°)	12.4	31.6
	Erwachsene	38.4(37°)	25.0	51.8
HARDY et al.(1977)	Frauen	30.6	11.0	69.3
SMITH et al.(1977)	Männer (18-62J)	17.6	9.4	25.7
	Frauen (17-66J)	15.5	9.2	21.9
ZATZ et al.(1978)	Kinder (4-14J)	56.6	35.0	73.3
	Erwachsene	20.0	8.3	35.0
PERCY et al.(1979)	Frauen (17-60J)	13.1	8.3	17.9
SAGE et al.(1979)	Kinder	32.4		
	Erwachsene	18.7		
EIGENE MESSUNGEN	Kinder (4Wo-2J)	31.6	18.2	54.9
	Kinder (3-10J)	21.6	13.9	33.5
	Kinder (11-15J)	18.4	10.7	31.7

*Die hinter den Mittelwerten angegebenen Zahlen in Klammern sind von 25°C abweichende Meßtemperaturen in °C.

So geben SAGE et al.(1979) einen Mittelwert von 32.4 U/l für Kinder vom 1.Lebenstag bis zum 16.Lebensjahr an. Bei ZATZ et al.(1978) schrumpft die Altersdifferenz schon auf 10 Jahre(Kinder von 4-14 Jahren), was einen besseren Vergleich ermöglicht. Als weiterer Befund wird neben dem Mittelwert(56.6 U/l) der 95%ige Vertrauensbereich(35.0-73.3 U/l) angegeben. Ferner wird vermerkt, daß bei 2 Kindern unter 10 Jahren die PK-Aktivität bei 35.0 U/l liegt.

Keinen Altershinweis enthalten die Angaben von YAMUNA et al.(1977) für die Normalwerte von Kindern und HARANO et al.(1973) schließlich fassen Kinder und Erwachsene in einem Kollektiv von 4-60 Jahren zusammen.

Ein absoluter Vergleich der in der Literatur der letzten 20 Jahre beschriebenen PK-Referenzwerte mit den in dieser Studie bestimmten Enzymwerten ist offensichtlich schwer möglich. Es werden aber für die Praxis wichtige Tendenzen und Relationen erkennbar, die ohne vorliegende Übersicht(Tab.VII)kaum transparent würden.

Altersabhängigkeit

Vergleicht man Mittel- und Maximalwerte von Erwachsenen und Kindern(s.Tab.VII),so findet man bei den Erwachsenen deutlich niedrigere Werte. Es besteht offensichtlich eine negative Regression der PK-Spiegel mit zunehmendem Alter.

Während WEINSTOCK et al.(1977) bei 17-55jährigen Männern und Frauen keine Altersabhängigkeit beobachteten, sprechen PERCY et al.(1979) schon von einer Tendenz zur Altersabhängigkeit bei PK-Aktivitäten von 17-60jährigen Frauen.

Die eigenen Untersuchungen an Kindern zeigen jedoch eine signifikante Altersabhängigkeit(p kleiner 0.01,s.a.Abb.8 S.18), d.h.mit zunehmendem Alter fallen die PK-Aktivitäten ab, sogar stärker als bei der CK. Die eigenen Befunde stimmen in diesem Punkt mit den Beobachtungen von ZATZ et al.(1978) bei Kindern von 4-14 Jahren überein.

YAMUNA et al.(1977) und SAGE et al.(1979) haben zwar eine Altersabhängigkeit nicht ausdrücklich beschrieben, doch lassen die deutlichen Aktivitätsdifferenzen zwischen Kinder- und Erwachsenenwerten eine Altersabhängigkeit vermuten.

Geschlechtsunterschiede

Die meisten Autoren geben die PK-Normalwerte nicht für Männer und Frauen getrennt an. Man darf unterstellen, daß Geschlechtsabhängigkeiten nicht gefunden wurden, wenn dies auch nicht ausdrücklich beschrieben ist. HARANO et al.(1973, WEINSTOCK et al.(1977) und SMITH und THOMSON(1977) sagen deutlich, daß es keine Geschlechtsunterschiede gibt. Diese Behauptung, die in erster Linie für PK-Spiegel Erwachsener zutrifft, gilt auch für Kinder in verschiedenen Altersstufen. Dies haben eigene Untersuchungen bestätigt(s.Abb.11 S.21). Abb.11 zeigt aber auch einen Geschlechtsunterschied in allen Altersstufen zusammen, der durch Verbindung der mittleren PK-Werte grafisch erkennbar wird. Dieser erwies sich nach Varianzanalyse als signifikant(p kleiner 0.05). Da sich allerdings die Normwerte der PK auf drei getrennte Altersgruppen beziehen, für die nachweislich keine signifikanten Geschlechtsabhängigkeiten bestehen, erschien es gerechtfertigt, die Geschlechtsabhängigkeit in der Gesamtheit aller Altersgruppen nicht weiter zu berücksichtigen.

Hormonelle Einflüsse auf die PK während der Pubertät

Auf hormonelle Einflüsse während der Pubertät wird in der vorliegenden Literatur zur PK-Bestimmung nicht eingegangen. Nach eigenen Untersuchungen konnten hormonelle Einflüsse keine Veränderung der PK-Aktivitäten von 11-15 Jährigen bewirken:

Der Vergleich von 29 Jungen vor Pubertätseintritt mit 26 Jungen mit Pubertätsmerkmalen ergab keinen signifikanten Hormoneinfluß(p=0.08). Ebenfalls keinen signifikanten Hormoneinfluß auf die PK-Aktivitäten ergab der Vergleich von 13 Mädchen vor der Menarche mit 20 Mädchen nach der Menarche(p=0.43).

Tab.VIII

Normwerte der CK in U/l - Meßtemperatur 25°C[1]
Literaturübersicht und eigene Messungen

Autor	Kollektiv	Mittelwert	$\bar{x}$-2s	$\bar{x}$+2s
HUGHES(1962)	Männer	40.2(37°)	5.5	74.8
	Frauen	27.0(37°)	14.4	39.7
GRIFFITHS(1966)	Jungen	33.3(37°)		85.0
	Mädchen	28.4(37°)		60.0
THOMSON(1969)(K)[2]	Mädchen (1-7J.)	36.7	0.0	75.0
SZASZ et al. (K) (1970)	Frauen	28.4	0.0	72.5
	Männer	31.7	0.0	75.9
MELTZER(1971)	Männer	39.8(30°)	0.0	79.6
	Frauen	29.0(30°)	0.0	74.2
SMITH and (K) THOMSON(1977)	Männer	59.4	13.2	105.6
	Frauen	34.8	0.0	70.1
HARDY et al. (1977)	Frauen	27.2(37°)		65.0
PERCY et al. (1979)	Frauen (17-70J.)	37.2(30°)	16.0	86.3
	Mädchen (0-5J.)	59.3(30°)	32.6	107.9
	Mädchen (6-10J.)	73.8(30°)	35.2	154.8
	Mädchen (11-15J.)	49.1(30°)	14.3	168.7
SMITH et al. (1979)	Mädchen vor der Menarche(6-13J.)	29.0		71.0
	Mädchen nach der Menarche(13-16J.)	24.0		
	Frauen (13-54J.)	21.0		37.0
BUNDEY(K) et al. (1979)	Mädchen vor der Menarche(12-16J.)	33.4	14.1	79.0
	Mädchen nach der Menarche(12-16J.)	25.4	10.3	62.7
NICHOLSON et al.(1979)	Mädchen (5-15J.)	(37°)		73.0
CHEMNITZ et al.(1979)	Männer		10.0	80.0
	Frauen		10.0	70.0
KUPKE et al. (1980)	Mädchen (2Mon.-15J.)	5.u.95.Perz.	13.0	82.0
	Jungen (2Mon.-15J.)	5.u.95.Perz.	13.0	91.0

Tab.VIII

Fortsetzung

SATAPATHY(1979) und SKINNER	Mädchen (1-15J)	39.1(30°)	2.9	75.3
	Mädchen (-1J)	41.1(30°)	7.2	75.1
	Mädchen (1-2J)	26.3(30°)	2.2	49.3
	Mädchen (3-4J)	40.9(30°)	0.0	84.4
	Mädchen (5-6J)	30.5(30°)	3.1	57.9
	Mädchen (7-8J)	45.7(30°)	2.5	88.9
	Mädchen (9-10J)	38.0(30°)	22.5	53.5
	Mädchen (11-12J)	42.1(30°)	0.0	88.3
	Mädchen (13-14J)	37.4(30°)	2.3	72.4
SITZMANN und KNITZA(1981)	Neugeborene (-30.Tag)	99.0	49.0	149.0
	Säuglinge (1-12Mon)	53.0	41.0	65.0
	Kleinkinder (2-6J)	40.0	28.0	52.0
	Schulkinder (7-14J)	37.5	26.5	48.5
SITZMANN(1981)	Neugeborene (-4Wo)	98.0	48.3	145.7
	Säuglinge (2-12Mon)	53.2	20.5	112.8
	Kinder (12Mon -)	38.3	15.6	93.8
SITZMANN und ORTH(1983)	Säuglinge (1-3Mon)	59.0	33.8	84.2
	Säuglinge (3Mon -)	53.0	28.2	77.8
	Kleinkinder	45.5	15.9	75.0
	Schulkinder	46.5	14.8	78.1
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	Jungen (4-6Wo)	51.5	23.4	112.8
	Mädchen (4-6Wo)	37.2	20.9	68.4
	Jungen und Mädchen(7Wo-2J)	35.5	13.7	91.8
	Jungen (3-10J)	35.6	17.4	73.0
	Mädchen (3-10J)	30.2	11.7	77.7
	Jungen (11-15J)	35.6	14.7	85.9
	Mädchen (11-15J)	23.9	11.0	52.1

Creatinkinase

Normwertvergleiche

Der Vergleich der selbst ermittelten CK-Aktivitäten mit denen in der Literatur der letzten 20 Jahre fällt ebenso schwer wie bei der PK. Auch hier sind wegen der Vielfalt der Methoden, der Kollektive, der Meßtemperaturen und der Aktivatoren nur relative Vergleiche möglich(s.Tab.VIII).

Die meisten Autoren verwenden zur CK-Bestimmung die Methode von ROSALKI(1967) in modifizierter Form. Die Ergebnisse dieser Autoren wurden unverändert übernommen. Korrigiert wurden Werte von Glutathion aktivierten CK-Bestimmungen und höheren Meßtemperaturen(30°C und 37°C). Für Umrechnungen von Glutathion- auf NAC-aktivierte Werte wurde der Faktor 1.66 benutzt(SITZMANN und KNITZA 1981), für Temperaturkorrekturen von 30°C auf 25°C der Faktor 0.71 bzw. von 37°C auf 25°C der Faktor 0.5(SZASZ et al.1970). Zur Orientierung dienten die NAC-aktivierten CK-Normalwerte von CHEMNITZ et al.(1979), soweit bei den einzelnen Autoren Werte für Männer und Frauen angegeben waren.

Es wurde also nur in diesen Fällen nach den genannten Kriterien korrigiert und auch nur dann, wenn starke Abweichungen erkennbar waren. Mit diesen Korrekturen gelang eine besser verwertbare Übersicht, die bei unverändert übernommenen Werten nicht so leicht möglich gewesen wäre.

Altersabhängigkeit

Die CK-Aktivitäten im Kindesalter zeigten in dieser

Anmerkungen zu Tab.VIII

[1] Von 25°C abweichende Meßtemperaturen bei Verwendung eines anderen Aktivators als Glutathion stehen in () hinter dem jeweiligen Mittelwert.

[2] (k) weist sowohl auf korrekturen bezüglich des Aktivators als auch der Meßtemperatur hin.

Studie zwar eine signifikante(p kleiner 0.01), aber nicht ausgeprägte Altersabhängigkeit, d.h. eine kontinuierliche Aktivitätsabnahme mit zunehmendem Alter (s.Abb.5 S.16). THOMSON(1969) machte bei Mädchen im Alter von 1-7 Jahren die gleiche Beobachtung, ebenso PERCY et al.(1979) bei Mädchen(0-15Jahre) und Frauen (17-70Jahre). Auch die von SMITH et al.(1979) untersuchten Frauen im Alter von 13-54 Jahren zeigten deutlich niedrigere CK-Aktivitäten als 6-13 jährige Mädchen. Eine leicht negative Regression ergaben die CK-Werte von 12-16 jährigen Mädchen(BUNDEY et al.1979).

WIESMANN et al.(1966) fand die höchsten CK-Werte bei Neugeborenen und 0-1 Jährigen, die niedrigsten bei Kindern im Alter von 1-10 Jahren. Die höchsten CK-Werte fanden PERCY et al.(1979) bei Mädchen zwischen 6 und 10 Jahren, die niedrigsten zwischen 16 und 25 Jahren.

Die hier beschriebene regressive Dynamik der CK-Spiegel, die auch den eigenen Untersuchungen entspricht, wurde von anderen Autoren jedoch nicht bestätigt: Nach SATAPATHY und SKINNER(1979) scheint der CK-Spiegel bis zum 15.Lebensjahr zu steigen, um dann ziemlich konstant zu bleiben, nachdem im 1.Lebensjahr ein nicht signifikanter Aktivitätsabfall erfolgte.

Ein Anstieg der CK-Aktivität in der späten Kindheit wird auch von LANE und ROSES(1981) angegeben: In den ersten Lebensmonaten liegt der CK-Spiegel über dem 3s-Bereich für Frauen, im 4.Lebensjahr ist eine fallende Tendenz, während der Menarche ein starker Abfall erkennbar. Eine Übersicht zeigt Abb.12.

Keinen Alterseinfluß zeigten nach KUPKE et al.(1980) die CK-Werte von Säuglingen bzw. Kindern im Alter von 2 Monaten bis 15 Jahren.

Auch bei CK-Aktivitäten von Erwachsenen wird die Altersabhängigkeit unterschiedlich bewertet. Nach SZASZ et al.(1970) besteht nur bei Männern eine deutliche Aktivitätsabnahme mit zunehmendem Alter, während PERCY et al.(1979) dies in gleicher Weise für Frauen

beschreibt. Kein Alterseinfluß auf die CK-Spiegel der Erwachsenen besteht nach Ansicht von CHEMNITZ et al. (1979).

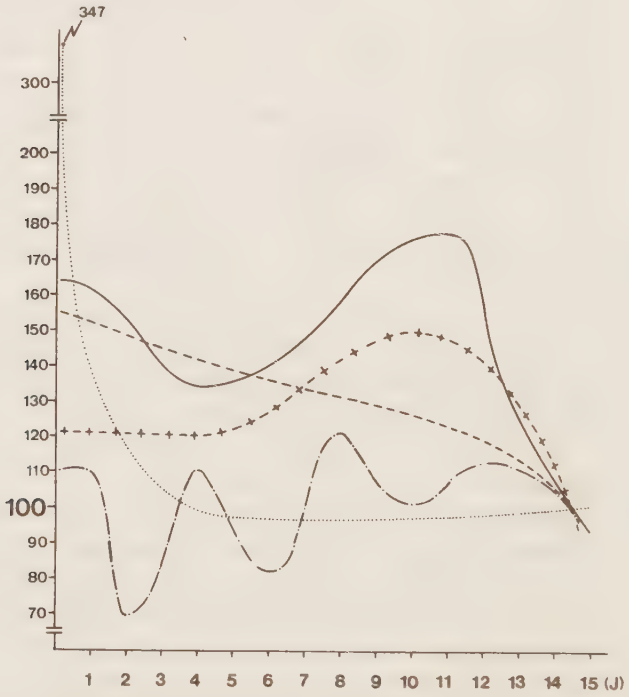

Abb.12 Dynamik der CK-Spiegel von Mädchen im Kindes- und Jugendalter, dargestellt durch Verhältniszahlen(100=CK-Aktivität der 14-15 Jährigen). (....WIESMANN et al.(1966),-+-+- PERCY et al. (1979),-.-.-SATAPATHY u.SKINNER(1979),——— LANE u.ROSES(1981),- - - Eigene Untersuchungen).

Geschlechtsabhängigkeit

Die in der vorliegenden Studie gefundene signifikante Geschlechtsabhängigkeit(p kleiner 0.01) der CK-Aktivitäten im Serum von Kindern mit Ausnahme der 7 Wochen bis 2 Jahre alten Kinder wurde in Abb.10(s.S.20) grafisch dargestellt durch die Verbindung der Mittelwerte. Deutlich erhöht sind v.a. die CK-Werte bei den Jungen.

Dies wird durch einige Autoren bestätigt(GRIFFITHS 1966), bei anderen hingegen ist keine ähnliche Beobachtung gemacht worden(WIESMANN et al.1966, KUPKE et al.1980). Einigkeit besteht jedoch in der Geschlechtsabhängigkeit von Erwachsenenwerten(HUGHES 1962, FEISSLI et al.1966, WIESMANN et al.1966, SZASZ et al.1970, SMITH u.THOMSON 1977, GALE und MURPHY 1979, CHEMNITZ et al.1979).

Hormonelle Einflüsse auf die CK während der Pubertät

Hormonelle Einflüsse während der Pubertät verursachten bei den 11-15 jährigen Jungen und Mädchen nach den vorliegenden Untersuchungen keine signifikanten Aktivitätsveränderungen: 29 Jungen vor der Pubertät wurden bezüglich ihrer CK-Werte mit 31 Jungen nach Pubertätseintritt verglichen. Die Aktivitätsveränderung war nicht signifikant(p=0.09).

Bei den Mädchen sind die Ergebnisse analog. Der Vergleich der Mädchen vor der Menarche(n=13) mit denen nach der Menarche(n=21) ergab bezüglich der CK-Aktivitäten keinen signifikanten Hormoneinfluß (p=0.14).

Einer Grafik von SMITH et al.(1979) waren die mittleren CK-Aktivitäten einer Gruppe von 21 Mädchen nach der Menarche(Alter 13-16 Jahre) zu entnehmen, die mit den eigenen Ergebnissen absolut übereinstimmten. Der CK-Spiegel der 13 jährigen Mädchen vor der Menarche wich nur um einige Units nach unten ab und ist praktisch ohne Bedeutung.

Auch BUNDEY et al.(1979) ermittelten für 12-16 jährige Mädchen nach der Menarche(n=110) CK-Aktivitäten, die den in dieser Studie gefundenen Werten sowohl im Mittelwert als auch im 95%igen Referenzbereich recht gut entsprachen(vgl.Tab.VIII S.34).Jedoch ergab sich in der gleichen Altersgruppe bei 38 Mädchen vor der Menarche ein signifikant höherer CK-Spiegel. Dieses Ergebnis mag vielleicht auch durch das höhere Signifikanzniveau entstanden sein als Folge der relativ großen Stichprobenumfänge. Eine Tendenz zu diesem Ergebnis läßt sich aller-

dings auch in den eigenen Untersuchungen erkennen (s.Abb. 10 S.20).

Aber auch schon bei geringen Stichprobenumfängen kamen LANE und ROSES(1981) zu dem gleichen Ergebnis. Sie untersuchten nur 28 Mädchen unter 15 Jahren vor und 8 nach der Menarche und fanden signifikant unterschiedliche CK-Aktivitäten(p kleiner 0.005). Eine Aussage mit so hohem Signifikanzniveau ist sicherlich trotz der relativ geringen Stichprobenumfänge als fundiert anzusehen.

Wie schon die vorangegangenen Abschnitte zeigten, werden nicht nur die Alters- und Geschlechtsabhängigkeiten des CK-Spiegels im Serum unterschiedlich bewertet, sondern auch hormonelle Einflüsse während der Pubertät.

Empirische Korrelation zwischen CK- und PK-Aktivitäten

Die ermittelten PK-Aktivitäten lagen meist um ein Drittel niedriger als die CK-Werte. Zur Klärung der Frage, ob eine empirische Korrelation zwischen beiden Enzymen besteht, wurde ein Scatterdiagramm erstellt (s.Abb. 9 S.19). Der Standardfehler von 1.5U/l bei der CK bzw.1.3U/l bei der PK ist praktisch zu vernachlässigen im Gegensatz zu großen Fehlern bei Werten im Extrembereich(ca.13 U/l). Im Mittel liegt der PK-Wert bei 88% der CK-Aktivität. Dieser Verhältniswert könnte in der Praxis als Anhaltspunkt für die zu erwartende PK-Aktivität nach vorausgegangener CK-Bestimmung dienen. Umgekehrt nach vorausgegangener PK-Bestimmung könnte die zu erwartende CK-Aktivität bei 114% liegen.

Praktische Bedeutung

Die Referenzwerte der CK- und PK-Aktivitäten bei Kindern dienen hauptsächlich der Diagnostik neuromuskulärer Erkrankungen mit erhöhter Membranpermeabilität sowie der Früherkennung von Mädchen mit Überträgereigenschaften

bzw. erwachsenen Konduktorinnen der Duchenneschen Muskeldystrophie.

Wichtig ist die Berücksichtigung der hier ermittelten CK- und PK-Referenzwerte im Kindes- und Jugendalter dort, wo offensichtlich Unterschiede zu Ergebnissen anderer Autoren existieren. Die eigenen Untersuchungen unterstreichen folgende Unterschiede:

1) Bei der PK besteht eine signifikante Altersabhängigkeit.
2) Bei der CK konnte eine signifikante Geschlechtsabhängigkeit beobachtet werden.
3) Hormonelle Einflüsse auf die CK und PK während der Pubertät wurden nicht gefunden.

Es ist grundsätzlich wichtig, Alter und Geschlecht zu berücksichtigen. Die Altersabhängigkeit ist bei der PK, die Geschlechtsabhängigkeit bei der CK stärker ausgeprägt.

Stark erhöhte Enzymwerte der CK oder PK wären typisch für das Krankheitsbild der DMD. Bei DMD-Knaben betragen die CK-Spiegel meist weit über 1000 U und bei DMD-Überträgerinnen im Kindes- und Jugendalter mehrere 100 U (BECKMANN und SCHEUERBRANDT 1979). Dies gilt besonders für das 3.-5.Lebensjahr von Mädchen mit Überträgereigenschaften, deren Erfassung zu diesem Zeitpunkt am günstigsten ist, weil die CK-Spiegel von gesunden Mädchen dann nämlich am niedrigsten sind(ROSES und LANE 1983).

Bei Konduktorinnen können sowohl normale als auch mäßig erhöhte Werte gefunden werden. Deshalb ist gerade bei Konduktorinnen im Kindes- und Jugendalter die Kenntnis der richtigen Referenzbereiche von besonderer Bedeutung.

Nach eigenen Beobachtungen sind intraindividuelle Enzymschwankungen nicht unerheblich; deren Berücksichtigung ist v.a. bei grenzwertigen Enzymaktivitäten von außerordentlicher Wichtigkeit. Deshalb werden zur Konduktorinnenerfassung mehrmalige Enzymbestimmungen in monatlichen Abständen vorgeschlagen(MORTIER 1981), um Fehlinterpretationen durch leichte Schwankungen im Serum vermeiden zu können.

Besonders bei der Erfassung möglicher Trägerinnen mit grenzwertigen Enzymaktivitäten muß eine adäquate Bewertung stets in Verbindung mit den Ergebnissen anderer Diagnosekriterien vorgenommen werden, z.B. ergänzende Biopsien, wie MOSER und VOGT(1974) vorschlagen.

Zusammenfassung

Es wurden Seren von 322 Kindern im Alter von 4 Wochen bis zu 15 Jahren untersucht und Normalwerte der CK NAC-aktiviert und der PK ermittelt.

Bei der PK besteht eine signifikante Altersabhängigkeit(p kleiner 0.01) mit fallender Tendenz bei zunehmendem Alter.

Bei der CK konnte eine signifikante Geschlechtsabhängigkeit(p kleiner 0.01) mit deutlicher Erhöhung der Enzymwerte bei den Jungen beobachtet werden.

Hormonelle Einflüsse auf beide Enzyme während der Pubertät wurden nicht gefunden.

Es ist grundsätzlich wichtig, bei beiden Enzymen Alter und Geschlecht zu berücksichtigen. Die Altersabhängigkeit ist bei der PK, die Geschlechtsabhängigkeit bei der CK stärker ausgeprägt.

Als CK-Referenzwerte NAC-aktiviert wurden ermittelt: Für Jungen 4-6 Wochen 25-115 U/l, für Mädchen 4-6 Wochen 20-70 U/l, für Jungen und Mädchen 7 Wochen bis 2 Jahre 15-90 U/l, für 3-10 jährige Jungen 15-75 U/l, für 3-10 jährige Mädchen 10-80 U/l, für Jungen 11-15 Jahre 15-85 U/l, für Mädchen 11-15 Jahre 10-50 U/l.

Als PK-Referenzwerte wurden ermittelt:
Für Jungen und Mädchen 4 Wochen bis 2 Jahre 20-55 U/l, Jungen und Mädchen 3-10 Jahre 15-35 U/l, Jungen und Mädchen 11-15 Jahre 10-30 U/l.

Die in dieser Studie erarbeiteten Refenzwerte dienen hauptsächlich der Früherkennung von Knaben und Mädchen mit neuromuskulären Erkrankungen.

Methodisch muß betont werden, daß die PK im Serum innerhalb eines Tages über 20% ihrer Ausgangsaktivität (d.h.2 Std.nach Blutentnahme) verliert, unabhängig davon, ob die Seren bei +4°C oder -20°C aufbewahrt werden. Bei Raumtemperatur ist der Verlust noch größer. Selbst durch Tieffrieren bei -20°C läßt sich der Aktivitätsabfall der PK nicht aufhalten. PK-Bestimmungen wurden daher innerhalb einer Woche nach Tieffrieren durchgeführt.

Die lagerungsbedingten Aktivitätsverluste der Ck sind unwesentlich und konnten durch den Aktivator N-Acetyl-Cystein kompensiert werden.

Bei stark erhöhten Enzymaktivitäten wird es keine Problematik bei der Interpretation geben, z.B. bei pathologischen Werten von neuromuskulären Erkrankungen wie der DMD. Grenzwertige Enzymaktivitäten z.B. bei möglichen Konduktorinnen können die Interpretation bereits erheblich erschweren. Hier müssen mehrmalige Bestimmungen in monatlichen Abständen durchgeführt werden, um Störungen durch intraindividuelle Enzymschwankungen weitgehend auszuschließen. Ferner erleichtern in grenzwertigen Fällen die Ergebnisse anderer Diagnosekriterien z.B. ergänzende Biopsien die adäquate Bewertung von CK- und PK-Aktivitäten.

Literaturverzeichnis

ALBERTS M.C. and F.J.SAMAHA
Serum pyruvate kinase in muscle disease and carrier states.
Neurology 24,462-464(1974)

BALMER S.E. and J.H.E.RUTISHAUSER
Serum creatine kinase in malnutrition.
J.Pediat.73,783-787(1968)

BAUMANN P.,J.ESCHER und R.RICHTERICH
Das Verhalten von Serum-Enzymen bei sportlichen Leistungen.
Schweiz.Z.Sportmedizin 10,31-51(1962)

BECKMANN R. und G.SCHEUERBRANDT
Screening auf erhöhte Kreatinkinase-Aktivitäten zur Früherkennung der Duchenne-Muskeldystrophie.
Fortschr.Med.97,1733-1736(1979)

BERNHARDT W. und W.EICKHOFF
Muskelläsion durch Nadelinsertionen.
Dtsch.Med.Wschr.105,605-609(1980)

BOEHRINGER MANNHEIM GmbH Kontroll-Labor Biochemie
Interne Testvorschrift zur Pyruvatkinase-bestimmung.6.Ausgabe,1-2(1980)

BUNDEY S.,J.M.CRAWLEY,J.H.EDWARDS and R.A.WESTHEAD
Serum creatine kinase levels in pubertal,mature, pregnant and postmenopausal women.
J.med.Genet.16,117-121(1979)

CHEMNITZ G.,E.SCHMIDT,P.U.KOLLER und E.W.BUSCH
Kreatinkinase - Überarbeitete Standardmethode Referenzwerte und Klinik.
Dtsch.med.Wschr.104,257-260(1979)

DIXON S.H.,J.C.A.FUCHS and P.A.EBERT
Changes in serum creatine phosphokinase activity following thoracic,cardiac and abdominal operations.
Arch.Surg.103,66-68(1971)

DOCUMENTA GEIGY
Wissenschaftliche Tabellen,7.Auflage
J.R.Geigy A.G.Pharma,Basel,590(1968)

DUBO H.,D.C.PARK,R.J.T.PENNINGTON,R.M.KALBAG and J.N.WALTON
Serum-creatine-kinase in cases of stroke, head injury and meningitis.
Lancet II,743-748(1967)

FEISSLI S.,G.FORSTER,G.LAUDAHN,E.SCHMIDT und F.W.SCHMIDT
Normalwerte und Alterung von Hauptketten-Enzymen im Serum.
Klin.Wschr.44,390-396(1966)

FORSTER G.
Die diagnostische Bedeutung der Serum-Kreatinkinase.
Praxis 52,1177-1183(1963)

FROTSCHER U.,B.DOMINIK,R.RICHTER,W.MESSERSCHMIDT, B.ZSCHAEGE,M.SCHULTE-LIPPERN,W.SCHMIDTMANN und R.WILBRANDT
Creatinin-Phosphokinase, ein diagnostisches Kriterium bei Schlafmittelvergiftungen.
Med.Klin.67,1442-1446(1972)

GALE A.N. and E.A.MURPHY
The use of serum creatine phosphokinase in genetic counseling for Duchenne muscular dystrophy.
J.Chronic Dis.32,639-651(1979)

GLÖTZNER F.L.,M.PLANNER and M.GAAB
Creatine kinase in serum after Grand mal seizures.
Eur.Neurol.18,399-404(1979)

GRAIG F.A. and G.ROSS
Serum Creatine-Phosphokinase in thyroid disease.
Metabolism 12,57-59(1963)

GRIFFITHS P.D.
Serum levels of ATP: Creatine Phosphotransferase (creatine kinase). The normal range and effect of muscular activity.
Clin.Chim.Acta 13,413-420(1966)

GUTMANN I. und E.BERNT
Pyruvat-Kinase-Bestimmung der Aktivität in Serum und Erythrocyten.
in H.U.BERGMEYER: Methoden der enzymatischen Analyse,3.Aufl.Verlag Chemie Bd.I,800-804(1974)

HARANO Y.,R.ADAIR,P.J.VIGNOS,M.MILLER and J.KOWAL
Pyruvate kinase isoenzymes in progressive muscular dystrophy and in acute myocardial infarction.
Metabolism 22,493-501(1973)

HARDY M.F.,D.GARDNER-MEDWIN and R.J.T.PENNINGTON
Serum pyruvate kinase in carriers of Duchenne muscular dystrophy.
J.Neurol.Sci.32,137-139(1977)

HOWER J.,D.MARUHN und H.STRUCK
Kreatin-Kinase-Aktivität und Hypocalcämie.
Dtsch.med.Wschr.99,14-15(1974)

HUGHES B.P.
A method for the estimation of serum creatine kinase and its use in comparing creatine kinase and aldolase activity in normal and pathological sera.
Clin.Chim.Acta 7,597-603(1962)

HUNT D.,C.McRAE and P.ZAPF
Electrocardiographic and serum enzyme changes in subarachnoid hemorrhage.
Am.Heart J.77,479-488(1969)

ISAACS H. and M.B.BARLOW
The genetic background to malignant hyperpyrexia revealed by serum creatine phosphokinase estimations in asymptomatic relatives.
Brit.J.Anaesth.42,1077-1084(1970)

KIEF W.,B.KLEIN und E.MÖLLER
Enzymbewegungen unter körperlicher Belastung bei trainierten und untrainierten Probanden.
Med.Klin.67,195-199(1972)

KUPFER D.J.,H.Y.MELTZER,R.J.WYATT and F.SNYDER
Serum enzyme changes during sleep deprivation.
Nature 228,768-770(1970)

KUPKE I.R.,W.TRITSCHLER,B.KATHER und W.BABLOK
Creatinekinase "NAC-aktiviert": Referenzwerte bei Kindern.
Klin.Pädiat.192,348-350(1980)

LANE R.J.M. and A.D.ROSES
Variation of serum creatine kinase(CK) levels with age in normal females: Implications for carrier detection in Duchenne dystrophy.
Clin.Chim.Acta 113,75-86(1981)

LIU P.K.S.,E.A.BARNARD and P.J.BARNARD
Blood plasma pyruvate kinase as a marker of muscular dystrophy. Properties in dystrophic chickens and hamsters.
Exp.Neurol.67,581-600(1980)

LUCENA G.E.,M.SCHEFTEL,M.AZAR,A.ADICOFF and F.L.GOBEL
Serum enzyme activity following cardiac catheterization and endomyocardial biopsy.
J.Lab.Clin.Med.84,6-19(1974)

MANIGAND G.,J.TAILLANDIER,N.FAUX et I.THOMAS
Elévation du taux de créatine-phosphokinase au cours de l'ornithose-psittacose.
Nouv.Presse Med.10,2442-2443(1981)

MELTZER H.
Creatine kinase and aldolase in serum: Abnormality common to acute psychoses.
Science 159,1368-1370(1968)

MELTZER H.Y.,S.MROZAK and M.BOYER
Effect of intramuscular injections on serum creatine phosphokinase activity.
Amer.J.Med.Sci.259,42-48(1970)

MELTZER H.Y.
Factors affecting serum creatine phosphokinase levels in the general population: The role of race, activity and age.
Clin.Chim.Acta 33,165-172(1971)

MERTEN R. und H.G.SOLBACH
Enzymverteilungsmuster des glykolytischen Systems und Citronensäurecyclus im Plasma Krebskranker.
Klin.Wschr.39,222-232(1961)

MORTIER W.
Progressive Muskeldystrophien
in: Neurologie in Praxis und Klinik
Hrsgb.H.Ch.HOPF,K.POECK,H.SCHLIACK
Georg Thieme Verlag Bd.II,1.34-1.50(1981)

MOSER H. and J.VOGT
Follow-up study of serum creatine kinase in carriers of Duchenne muscular dystrophy.
Lancet II,661-662(1974)

MOSER H.
Heterozygotenerfassung und genetische Beratung bei der progressiven Muskeldystrophie Duchenne.
Schweiz.Rundschau Med.(Praxis)66,814-822(1977)

MÜLLER G.
Klinische Biochemie und Laboratoriumsdiagnostik
G.Fischer Verlag 37,62,118,121-122(1977)

MUGGIA F.M.,N.CHOSSEIN,A.HANOK
Creatine phosphokinase and serum enzymes during radiotherapy.
J.A.M.A.211,1345-1350(1970)

MULCAHY J.J.,L.F.GREENE,D.C.CONNOLLY
Serum creatine phosphokinase levels following endoscopic urologic procedures.
J.Urol.105,123-125(1971)

NEVINS M.A.,M.SARAN,M.BRIGHT and L.J.LYON
Pitfalls in interpreting serum creatine phosphokinase activity.
J.A.M.A.224,1382-1387(1973)

NICHOLSON G.A.,D.GARDNER-MEDWIN,R.J.T.PENNINGTON and J.N.WALTON
Carrier detection in Duchenne muscular dystrophy. Assessment of the effect of age on detectionrate with serum-creatinekinase-activity.
Lancet I,692-694(1979)

NYGREN A.
Serum creatine phosphokinase activity in chronic alcoholism in connection with acute alcohol intoxication.
Acta Med.Scand.179,623-630(1966)

OTTO P.,E.SCHMIDT und F.W.SCHMIDT
Enzymspiegel im Serum bei körperlicher Arbeit und ambulanten Patienten.
Klin.Wschr.42,75-81(1964)

PEARCE J.M.S.,R.J.T.PENNINGTON and J.N.WALTON
Serum enzyme studies in muscle disease Part III: Serum creatine kinase activity in relatives of patients with Duchenne type of muscle dystrophy. J.Neurol.Neurosurg.Psychiat.27,181-185(1964)

PERCY M.E.,L.S.CHANG,E.G.MURPHY,I.OSS,Ch.VERELLEN-DUMOULIN and M.W.THOMPSON
Serum creatine kinase and pyruvate kinase in Duchenne muscular dystrophy carrier detection. Muscle and Nerve 2,329-339(1979)

RICK W.
Klinische Chemie und Mikroskopie
Springer Verlag 5.Aufl.236,229,383(1977)

ROSES A.D. and R.J.M.LANE
Duke University Researchers study carrier detection in DMD.
MDA NEWS,May,3(1983)

ROSALKI S.B.
An improved procedure for serum creatine phosphokinase determination.
J.Lab.& Clin.Med.69,696-705(1967)

SAGE J.,Y.INATI and F.SAMAHA
The importance of serum pyruvate kinase in neuromuscular diseases and carrier states.
Muscle and Nerve 2,390-393(1979)

SALTER D.G. and R.A.SAUNDERS
Serum creatine phosphokinase elevation following febrile convulsions in infants.
Ann.clin.biochem.7,152-154(1970)

SATAPATHY R.K. and R.SKINNER
Serum creatine kinase levels in normal females.
J.Med.Genet.16,49-51(1979)

SHANE E.,K.A.McCLANE,M.R.OLARTE and J.P.BILEZIKIAN
Hypoparathyroidism and elevated muscle enzymes.
Neurology 30,192-195(1980)

SITZMANN F.C.
Unspezifische Enzymreaktionen.
Med.Klin.73,37-47(1978)

SITZMANN F.C.
Enzymdiagnostik im Kindesalter
Z.Allg.Med.57,1750-1757(1981)

SITZMANN F.C. und E.KNITZA
Laboruntersuchungen im Kindesalter.
Bewertung praktisch wichtiger Serumenzymbefunde.
Der inform.Arzt 9,29-35(1981)

SITZMANN F.C. und H.ORTH
N-Acetyl-Cystein(NAC)-aktivierte Creatinkinase
(CK) und Isoenzym CK-MB im Serum von Kindern.
Monatsschr.Kinderheilk.131,509-512(1983)

SMITH I. and W.H.S.THOMSON
Carrier detection in x-linked recessive
(Duchenne) muscular dystrophy: Pyruvate kinase
isoenzymes and creatine phosphokinase in serum
and blood cells.
Clin.Chim.Acta 78,439-451(1977)

SMITH I.,R.A.ELTON and W.H.S.THOMSON
Carrier detection in x-linked recessive
(Duchenne) muscular dystrophy: Serum creatine
phosphokinase values in premenarchal,menstru-
ating,postmenopausal and pregnant normal women.
Clin.Chim.Acta 98,207-216(1979)

SCHIAVONE D.J. and J.KALDOR
Creatine phosphokinase and cerebral disease.
Med.J.Aust.52,790-792(1965)

SCHMIDT E.,F.W.SCHMIDT und C.HERFARTH
Studien zum Austritt von Zell-Enzymen am Modell
der isolierten perfundierten Rattenleber(1.Mitt.)
Enzym.biol.clin.7,53-72(1966)

SCHMIDT E.,F.W.SCHMIDT und E.WILDHIRT
Aktivitätsbestimmungen von Enzymen des energie-
liefernden Stoffwechsels im menschlichen Serum
und im Leberpunktat bei Lebererkrankungen.
Klin.Wschr.36,280-287(1958)

SCHMIDT E.,F.W.SCHMIDT,H.D.HORN und U.GERLACH
Die Bedeutung der Messung von Enzym-Aktivitäten
in der Medizin.
in H.U.BERGMEYER: Methoden der enzymatischen
Analyse.Verlag Chemie,Weinheim,1.Aufl.651-712(1962)

SCHMIDT E. und F.W.SCHMIDT
Kleine Enzymfibel
Diagnostika Boehringer Mannheim 2.Aufl.11,48(1976)

STIRNEMANN U.,H.STIRNEMANN,R.RICHTERICH and P.LUNDSGAARD-HANSE
Serum enzyme activities in clinical and experimental tetanus.
Enzym.biol.clin.8,7-20(1967)

SZASZ G.,E.W.BUSCH und H.B.FAROHS
Serum-Kreatinkinase
I.Methodische Erfahrungen und Normalwerte mit einem neuen handelsüblichen Test.
Dtsch.med.Wschr.95,829-835(1970)

TAMMISTO T. and M.AIRAKSINEN
Increase of creatine kinase activity in serum as sign of muscular injury caused by intermittently administered suxamethonium during halothane anaesthesia.
Brit.J.Anaesth.38,510-515(1966)

TANAKA K.R.,W.N.VALENTINE and S.MIWA
Pyruvate kinase(PK) deficiency hereditary nonspherocytic hemolytic anemia.
Blood,19,267-295(1962)

THOMSON W.H.S.
An investigation of physical factors influencing the behavior in vitr of serum creatine phospho kinase and other enzymes.
Clin.Chim.Acta 23,105-120(1969)

THOMSON W.H.S.
The biochemical identification of the carrier state in x-linked recessive(Duchenne) muscular dystrophy.
Clin.Chim.Acta 26,207-221(1969)

VALENTINE W.N. and K.R.TANAKA
Pyruvate kinase: Clinical aspects
Methods Enzymol.9,468-473(1966)

VAN RYMENANT and J.ROBERT
Enzymes in Cancer I: Measurement of pyruvate kinase in serum of normal individuals and patients with camcer.
Cancer 12,1087-1091(1959)

VORBURGER Ch.,B.FÄSSLER und P.KÖHLE
Serumkreatinkinase und intramuskuläre Injektion.
Schweiz.Med.Wschr.103,927-930(1973)

WEINSTOCK I.M.,J.BEHRENDT,H.E.WILTSHIRE,J.KELEMAN and S.LOUIS
Pyruvate kinase: Diagnostik value in neuro-
muscular disease.
Clin.Chim.Acta 80,415-422(1977)

WIESMANN U.,J.P.COLOMBO,A.ADAM and R.RICHTERICH
Determination of cysteine activatet creatine
kinase in serum.
Enzym.biol.clin.7,266-284(1966)

WOLFE R.R.,H.D.RUTTERBERG and A.J.MOSS
Serum creatine phosphokinase levels in children
undergoing cardiac catheterization.
J.Pediat.77,52-58(1970)

YAMUNA S.,K.VALMIKINATHAN,D.BURT and A.E.H.EMERY
Serum pyruvate kinase in carriers of Duchenne
muscular dystrophy.
Clin.Chim.Acta 79,277-279(1977)

ZATZ M.,L.J.SHAPIRO,D.S.CAMPION,E.ODA and M.M.KABACK
Serum pyruvate kinase(PK) and creatine phospho-
kinase(CK) in progressive muscular dystrophies.
J.Neurol.Sci.36,349-362(1978)

Danksagung

Herrn Prof.Dr.med.Dipl.Psych.W.Mortier, Direktor der Städtischen Kinderklinik am Klinikum Wuppertal-Barmen, danke ich für die Anregung und Betreuung dieser Arbeit sowie Herrn Prof.Dr.H.Reinauer, Direktor der biochemischen Abteilung des Diabetes-Forschungsinstitutes an der Universität Düsseldorf für die Übernahme des Korreferates.

Für die Bereitstellung von Seren gilt mein besonderer Dank den Ärzten und Schwestern der Düsseldorfer Universitäts-Kinderklinik(Direktor Prof.Dr.G.-A.von Harnack) sowie den Herren Dr.A.Büchs und Dr.A.Colli, beide Ärzte für Kinderheilkunde und deren Mitarbeitern.

Herrn Prof.Dr.D.Reinhardt von der Düsseldorfer Universitätskinderklinik danke ich für die Bereitstellung eines Laborplatzes, Herrn Priv.-Doz.Dr.H.J.Trampisch und Frl.Löbert vom Institut für Medizinische Statistik und Biomathematik der Universität Düsseldorf(Direktor Prof. Dr.H.J.Jesdinsky) für die Hilfe bei der Bearbeitung statistischer Probleme.

Lebenslauf

Am 24.07.1949 wurde ich als Sohn der Eheleute Günter und Margarethe Hebel in Bückeburg/Niedersachsen geboren.Meine Kindheit und Jugendzeit verbrachte ich in Letmathe/Sauerland.Hier erhielt ich 1966 das Abschlußzeugnis der Städtischen Realschule.Danach war ich bis 1970 Schüler des Fichte-Gymnasiums im benachbarten Hagen/Westfalen.Nach dem Abitur folgte ein zweijähriges Apothekerpraktikum in der Letmather Adler-Apotheke. 1972 legte ich vor der Bezirksregierung in Arnsberg die pharmazeutische Vorprüfung mit gutem Erfolg ab und erwarb gleichzeitig die Berechtigung zur Ausübung einer Tätigkeit als Pharmazeutisch-Technischer-Assistent.Da sich die Aufnahme des zunächst geplanten Pharmaziestudiums durch den strengen Numerus clausus verzögern würde,arbeitete ich in verschiedenen Apotheken Nord- und Süddeutschlands.1975 widmete ich mich für 6 Monate der Krankenpflege,nachdem endgültig der Entschluß zum Medizinstudium gefaßt war.Doch erst im SS 1976 erhielt ich in Düsseldorf den lang ersehnten Studienplatz in Medizin.Es folgten Famulaturen in Hamburg(Innere Medizin) und Düsseldorf(Kinderheilkunde und Sozialmedizin).Nach dem Praktischen Jahr an den Kliniken St.Antonius in Wuppertal(Wahlfach Gynäkologie) und Ärztlicher Prüfung wurde ich am 09.06. 1983 als Arzt approbiert.Von August 1983 bis März 1985 hatte ich eine Assistentenstelle in der gefäß- und allgemeinchirurgischen Abteilung des Hagener St.Josefs-Hospitals(Chefarzt Dr.H.Herzhoff).Seit April 1985 bin ich Assistenzarzt in der Abteilung für Innere Medizin am Wittener Marien-Hospital(Chefarzt Dr.H.F.Hölscher).

Druck und Verarbeitung: Dissertations Druck Darmstadt, Tel. 06151 / 21353